

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCXCVII.

1900

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME IX.

1° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

1900

Fisiologia. — *Studi sulle leggi che regolano l'eliminazione del CO₂ nella respirazione. — Influenza della concentrazione del sangue sulla tensione del CO₂ contenuti.* (1) Nota I del dott. V. GRANDIS, presentata dal Socio LUCIANI.

In una serie di lavori (2) pubblicati dal 1892 in qua mi sono occupato a studiare le condizioni fisiche e fisiologiche che determinano lo scambio dei gas tra il sangue e l'aria degli alveoli polmonari. Nel mio lavoro sulle condizioni degli scambi gassosi nel polmone ho riferito la bibliografia dell'argomento fino all'anno 1897, e ciò mi dispensa dal ritornare qui sulla parte storica della questione, per cui mi limiterò ad accennare in questa Nota agli studi comparsi dopo quella data. La presente Nota è destinata a far conoscere una causa sfuggita finora agli studiosi, la quale può, a mio parere, contribuire potentemente nel dar ragione delle divergenze esistenti tra le opinioni dei valenti osservatori raccolti in due gruppi opposti, di cui uno, capitanato da Pflüger, sostiene che il fenomeno degli scambi gassosi nel polmone ubbidisce solamente alle leggi della diffusione dei gas, mentre l'altro che fa capo a C. Ludwig, basandosi sopra fatti ben constatati, ritiene il fenomeno della diffusione incapace di spiegare tutte le condizioni che si possono avverare nei reciproci rapporti dei gas nel polmone, ed ammette perciò nell'epitelio delle vescichette polmonari un'attività secretoria pel CO₂ ed assorbente per l'ossigeno.

I grandi progressi realizzati dalla fisico-chimica ci hanno svelato nuove leggi, da cui dipendono i differenti stati molecolari della materia, e noi siamo obbligati ora a prenderle in considerazione ogni qual volta dobbiamo studiare una reazione chimica od un fenomeno in cui abbiano luogo reazioni chimiche.

Nello studio dell'eliminazione del CO₂ dal sangue nell'aria degli alveoli polmonari dobbiamo anzi tutto tener presente il fatto che in un determinato momento, cioè nell'atto in cui si compie il passaggio, tutta la quantità di CO₂ che viene ceduto dal sangue, dove si trova, secondo le recenti ricerche di Hamburger (3), Limbeck (4), Loery e Zuntz (5), Manca (6), Bottazzi (7), per la massima parte legata nella parte albuminosa della mole-

(1) Lavoro eseguito nel laboratorio di fisiologia della R. Università di Pisa.

(2) Rendiconti della R. Accademia dei Lincei. Vol. VII, 2° Semestre, p. 319, 400, 471. *Archives Italiennes de Biologie.* — Tome XXIX, fasc. I, pag. 111; e fasc. II, pag. 189.

(3) *Zeitschr. f.* Bd. 35. pag. 252.

(4) *Arch. f. Exper. Pathol. u. Pharmakol.* Bd. 35. pag. 309.

(5) *Pflüger's Archiv.* Bd. 58, pag. 511.

(6) *Lo Sperimentale*, anno 48, fasc. V e VI.

(7) *Lo Sperimentale*, anno 49, fasc. III.

cola dell'emoglobina, deve necessariamente separarsi dalla combinazione molecolare coll'emoglobina, trovarsi allo stato di soluzione nel liquido che costituisce il plasma sanguigno; e da questo poi essere ceduto all'aria degli alveoli polmonari. In quel istante cioè in cui si compie il passaggio effettivo, il CO_2 non è più allo stato di combinazione albuminosa ma realmente allo stato di soluzione nel plasma, ed è tra la soluzione di CO_2 nel plasma e l'aria degli alveoli polmonari, che debbono avvenire i fenomeni di diffusione. In base a questa considerazione, noi non potremo avere un'idea completa del fenomeno, finchè trascureremo di prendere in debita considerazione le leggi che regolano la solubilità dei gas nei liquidi, non solo, ma anche lo stato del liquido che serve da solvente.

Ciò premesso dobbiamo studiare innanzi tutto come si comporta il solvente, cioè il plasma sanguigno, mentre il sangue circola nei polmoni. È noto che coll'aria espirata si elimina, oltre il CO_2 , una considerevole quantità di H_2O , la quale proviene necessariamente dall' H_2O del plasma sanguigno che circola nel polmone; in altri termini, il sangue circolando nei polmoni si concentra perchè cede una parte della sua acqua all'aria espirata. Le ricerche di Loevy (1) hanno dimostrato che alla temperatura del polmone l'aria degli alveoli polmonari, satura di vapor acqueo, deve contenere circa il 6 % di vapor acqueo, quantità considerevole, la quale esercita certamente grande influenza sui processi metabolici. L'Oddi (2) nelle sue ricerche sul ricambio respiratorio del *mus musculus* aveva già trovato che esiste un rapporto speciale tra la quantità di CO_2 e la quantità di H_2O eliminata colla respirazione. Quando noi vogliamo applicare le leggi della diffusione dei gas a quanto avviene tra il plasma sanguigno nel polmone e l'aria degli alveoli polmonari, dobbiamo badare che, durante il suo passaggio attraverso il polmone, il plasma sanguigno non può venir considerato come una semplice soluzione di una determinata quantità di CO_2 la quale mette in equilibrio la tensione del suo CO_2 con quella del CO_2 dell'aria degli alveoli, ma come una soluzione di CO_2 che, mentre per una parte tende a diminuire la sua tensione gassosa ed equilibrarsi con il CO_2 dell'aria alveolare, cedendo parte del suo CO_2 , per altra parte, a cagione della quantità d'acqua che contemporaneamente perde, tende diventare una soluzione di CO_2 più concentrata di quanto lo fosse al suo arrivo, quindi ad assumere una tensione di CO_2 maggiore. La combinazione dei due fatti complica considerevolmente l'analisi del fenomeno e non può a meno di far sentire notevolmente la sua influenza sul fenomeno finale risultante, cioè sulla quantità e sulla tensione del CO_2 dell'aria alveolare rispetto alla tensione del CO_2 del sangue.

Sarà possibile avere un concetto esatto di quanto realmente avviene, studiando separatamente i due fenomeni opposti e cercando in seguito quale

(1) Pflüger's Archiv. LVIII. pag. 416, 1894.

(2) *Lo Sperimentale*, tom. LXIV, pag. 193.

possa essere la risultante della loro combinazione. Sono finora state profondamente studiate tutte le modalità della diffusione dei gas rispetto alla loro influenza sulla eliminazione del CO_2 , ma non mi consta che sia stata mai rivolta l'attenzione dei fisiologi sopra l'influenza della concentrazione del solvente sulla tensione del gas disciolti.

Nelle soluzioni in generale, quando diminuisce la quantità del solvente e la soluzione si concentra, se la diminuzione è tanto grande da raggiungere e superare i limiti del prodotto di solubilità (Ostwald, *Analytische Chemie* pag. 72) il corpo disciolto si separa e si ha il fenomeno generalmente conosciuto col nome di precipitazione. Nel caso speciale in cui il corpo disciolto è di natura gassosa, avviene pure la separazione, però non può avvenire la precipitazione, ed il gas, non potendo più star disciolto, acquista nella soluzione stessa una tensione maggiore, la quale tende a farlo sfuggire dalla soluzione se non vi sia trattenuto artificialmente da una corrispondente pressione, esercitata dal di fuori sul solvente.

Da quanto ho detto sopra appare chiaramente che, se lo stesso fatto si avvera per il CO_2 sciolto nel plasma sanguigno, si possederà una ragione fisica, la quale ne spiega perchè Bohr ⁽¹⁾, ed Henriques ⁽²⁾, Hamburger ⁽³⁾, Haldane e Smith ⁽⁴⁾, abbiano trovato nell'aria degli alveoli polmonari una tensione di CO_2 superiore a quella, che era possibile constatare coi loro tonometri nel sangue nel momento in cui arriva od esce dal polmone. Essi determinavano la tensione del CO_2 in una soluzione, le cui condizioni fisiche erano differenti da quelle in cui realmente si trova la soluzione del CO_2 nel plasma sanguigno mentre attraversa il polmone; dovevano quindi necessariamente trovare la differenza che hanno realmente riscontrato e che, studiata senza tener conto di questa considerazione, li autorizzò ad ammettere un'attività secretoria dell'epitelio polmonare.

L'importanza del fenomeno mi spinse a sottoporlo alla prova sperimentale. Il problema nella sua più semplice espressione si riduceva in questi limiti, determinare se, coll'aumentare la concentrazione del plasma, aumenta la tensione del CO_2 contenuto nel sangue. Realmente in questa forma le cose decorrono in modo alquanto differente di quanto avvengano nell'atto respiratorio dell'animale; qui entra successivamente in azione tutto il CO_2 che sfugge dal sangue essendo sotto forma di soluzione nel plasma, perchè tale deve essere realmente nell'atto in cui il passaggio avviene; si ha quindi un fenomeno attivo e continuamente svolgentesi, havvi cioè qualche cosa di dinamico. Nella forma come fu posto il quesito invece si prende in considerazione il

(1) Skandinavisches Archiv. f. Physiologie Bd. 2. pag. 236. Bol. 3. pag. 47.

(2) Archives de Physiologie 1897, pag. 459, 590, 710.

(3) Zeitschr. f. Biolog. Bd. 35, pag. 252.

(4) Journal of Physiol. Vol. XX, e XXII, pag. 231.

sangue come un liquido di composizione fissa, in cui vi è contenuto del CO_2 sotto forme differenti cioè del CO_2 combinato col nucleo albuminoso, dell'emoglobina, del CO_2 allo stato di combinazione fissa, carbonati, del CO_2 allo stato di combinazione labile, bicarbonati, e infine del CO_2 allo stato di dissoluzione semplice, sempre però in quantità invariabile e quindi in un equilibrio statico, che rappresenterà soltanto quello che avviene in un istante dell'atto respiratorio. Le leggi di equilibrio delle combinazioni chimiche, delle dissociazioni e delle soluzioni, così profondamente studiate dalla fisico-chimica, ci obbligano ad ammettere nel plasma tutte le modalità di CO_2 sopra detto.

Il CO_2 allo stato di dissoluzione semplice proviene certamente in parte dalla dissociazione dei corpi sopra nominati, di cui è generalmente ammessa l'esistenza nel sangue. Realmente quindi il nostro esperimento si farà in condizioni sfavorevoli per la dimostrazione, perchè essendo limitata la quantità di sangue, nè potendo rinnovarsi il fenomeno, per esser pure limitata la possibilità d'eliminare il CO_2 man mano che aumenta la sua tensione, questa pone un limite al realizzarsi del fenomeno, e perciò l'azione della concentrazione si potrà esercitare soltanto sulla piccola porzione, che deve trovarsi permanentemente allo stato di soluzione nel liquido, affinchè persista l'equilibrio statico tra i differenti composti del CO_2 soprannominati. Questa difficoltà d'esperimentazione poteva essere diminuita solamente in piccola parte aumentando grandemente la sensibilità dell'apparecchio ed usando una grandissima cura nell'osservazione. Io tentai di raggiungere lo scopo nel modo seguente.

Era necessario prima di tutto porsi al riparo da tutte le cause d'errore, che le variazioni di temperatura e di pressione atmosferica potessero esercitare sopra le minime tensioni che si dovevano misurare, secondariamente porsi in condizioni tali, da poter misurare delle piccolissime variazioni di pressione, quali sono quelle, che possono essere date da variazioni minime nella tensione di quantità piccolissime del gas CO_2 che poteva trovarsi allo stato di dissoluzione nelle piccole quantità di sangue, di cui potevo far uso in ogni singola determinazione. Adoprando quantità grandi di sangue correvo rischio di crearmi difficoltà nel realizzare prontamente una temperatura costante in tutte le differenti parti dell'apparecchio, e così al fine veder compromesso il risultato dell'esperimento da un erroneo aumento o diminuzione di pressione, dovuto ad un aumento o diminuzione di temperatura ambiente. Questa costituì la difficoltà maggiore della ricerca e mi obbligò, per ovviarla, a costruire apparecchi di forme diverse, finchè giunsi a quello rappresentato nella qui unita figura, che a me parve il migliore per semplicità ed esattezza.

L'apparecchio consiste essenzialmente nei due recipienti A e B, di capacità ad un dipresso uguale, corrispondente circa a 25 c.c. disposti uno sopra l'altro, e comunicanti fra di loro per mezzo di due tubi *a* e *b*. Il tubo *a* mette direttamente in comunicazione la parte inferiore del recipiente A, contenente il sangue, con una soluzione concentrata di cloruro di sodio o di zucchero,

contenuta nel recipiente B. Ciò si otteneva per mezzo d'un tubo sottile, che attraversando il tappo, con cui B era chiuso superiormente, arrivava fin verso il fondo di B. Lateralmente nella parte superiore da B partiva un tubetto, che andava a sboccare nella parte superiore laterale di A. Le comunicazioni

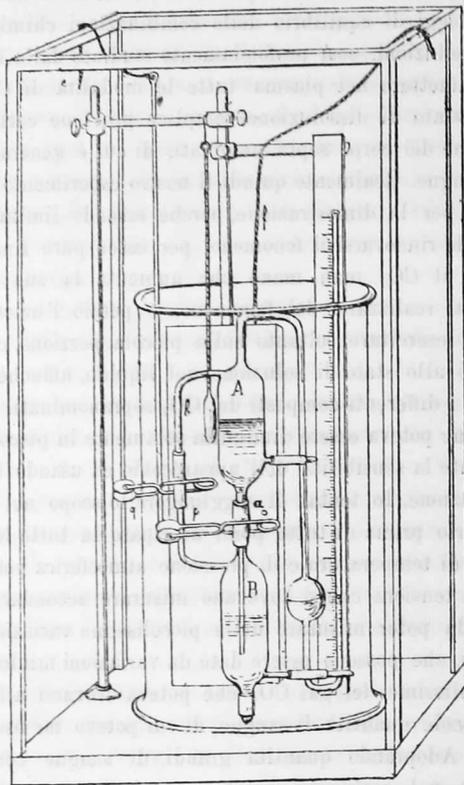


FIG. 1.

tra A e B, sopra descritte, potevano essere perfettamente chiuse per mezzo d'una pinzetta a pressione, la quale poteva essere manovrata da lontano per mezzo d'una funicella. L'estremità superiore del recipiente A poteva poi esser messa in comunicazione con un manometro ad acqua, fatto con un tubo molto sottile del diametro interno di un millimetro, al massimo, allo scopo di renderlo sensibile quanto era possibile, col ridurre al minimo lo spazio inutile. Il manometro comunicava coll'estremità superiore di A per mezzo d'un tubo a pareti assolutamente rigide ed adattabile ad A per mezzo d'una chiusura ermetica.

Il modo di funzionare dell'apparecchio è il seguente:

Si riempie a metà il recipiente A con sangue venoso od arterioso, raccolto dall'animale, sopra il mercurio, fuori il contatto dell'aria, e defibrinato col mercurio stesso. Onde impedire il contatto con l'aria nell'atto in cui lo si faceva passare dentro il recipiente A, veniva previamente posto in A uno straterello di olio d'oliva e poscia, per mezzo del mercurio stesso contenuto nei vasi comunicanti, dove era stato raccolto il sangue, questo veniva spinto attraverso ad un lungo tubo, il quale pescava sotto il livello dell'olio al fondo del vaso A, di cui era chiusa la comunicazione con B per mezzo della pinza a pressione.

Nel recipiente B veniva posta una quantità ad un dipresso uguale di una soluzione concentrata di cloruro di sodio, oppure di zucchero di uva. Il titolo della soluzione era quello delle soluzioni normali; per lo scopo mio era necessario avere una soluzione di concentrazione superiore alla concentrazione del plasma sanguigno, affinché questo venendo mescolato colla soluzione acquistasse una concentrazione superiore a quella che prima possedeva.

La soluzione veniva preparata con acqua distillata e previamente bollita per lungo tempo, e la soluzione stessa poi veniva fatta bollire prima d'essere adoperata, onde cacciare ogni traccia d'aria. Come già fu detto per il sangue introdotto nel recipiente superiore A, la soluzione veniva difesa dal contatto dell'aria per mezzo d'uno straterello d'olio d'oliva dell'altezza di un 3 millimetri circa.

Ciò fatto tutto l'apparecchio veniva immerso in un recipiente di vetro, contenente acqua scaldata alla temperatura voluta, la quale si poteva mantenere uniforme in tutto il vaso agitando per mezzo d'un piccolo agitatore; il tutto veniva chiuso dentro un termostato a pareti di vetro, dove per mezzo di una fiamma a gas si manteneva costante la temperatura. Uno spago *f*, che attraversava le pareti del termostato, permetteva d'agitare dal di fuori l'acqua ed un altro spago *c* permetteva di aprire, pure dal di fuori, per mezzo di una leva, la pinza a pressione *P* colla quale venivano interrotte le comunicazioni fra il fondo del recipiente superiore A, contenente il sangue, ed il recipiente inferiore B, contenente la soluzione di sale o di zucchero. La pinza *q* veniva tenuta permanentemente aperta durante l'esperienza, si chiudeva solamente durante la preparazione. Nel recipiente di vetro in contatto con l'apparecchio stava un termometro diviso in $\frac{1}{10}$ di grado di cui l'indicazione veniva letta da lontano per mezzo d'un canocchiale col quale veniva pure letta l'indicazione del manometro ad acqua.

Quando per lungo tempo la temperatura del termometro non variava, univo la parte superiore del recipiente A con il manometro e facevo una serie di letture per determinare l'andamento della temperatura e della pressione notata dall'altezza del liquido nel manometro. Dopo che questa era costante, o per lo meno conoscevo l'andamento della curva delle variazioni, tiravo lo spago, aprivo la comunicazione del fondo di A con B e lasciavo

passare una parte del sangue in B. Per questo passaggio una parte dell'aria contenuta in B veniva spinta, attraverso il tubo laterale *b*, nella parte superiore del recipiente A ed andava ad occupare lo spazio lasciato libero dal sangue passato nel recipiente inferiore. Siccome l'acqua del grande recipiente di vetro in cui tutto l'apparecchio stava immerso veniva continuamente agitata, la temperatura vi rimaneva costante in tutte le sue parti. Nell'interno dell'apparecchio, che formava un tutto chiuso, ed in rapporto colla pressione esterna soltanto per mezzo del manometro ad acqua avveniva solamente trasposizione di materia, ma non alterazione di quantità o di volume della materia stessa. La trasposizione effettuata in questo modo, permetteva di aumentare la concentrazione del plasma della quantità di sangue presa in esame, quindi, se avvenivano variazioni nella colonna d'acqua del manometro, senza corrispondenti variazioni di temperatura, quelle variazioni dovevano ascriversi all'aumentata concentrazione del plasma e dovevano essere dipendenti da variazioni avvenute nella tensione dei gas contenuti nel sangue. Subito dopo fatta la miscela, veniva letta l'indicazione del manometro e del termometro e confrontata colla lettura fatta immediatamente prima di far la miscela; la lettura veniva poi ripetuta parecchie volte, a brevi intervalli variabili, onde avere dati necessari a costruirne la curva.

Nella seguente tabella sono riportati i risultati di tre osservazioni, due sopra sangue venoso ed una sopra sangue arterioso; tralascio di trascrivere tutti i dati raccolti prima di ottenere la temperatura costante, e mi limito a dare i risultati delle letture fatte immediatamente prima e dopo la miscela che determina l'aumento di concentrazione del sangue. I numeri in corsivo sono quelli ottenuti dalla lettura immediatamente dopo avvenuta la miscela.

TABELLA

<i>Recipiente A</i> Sangue venoso fresco			<i>Recipiente B</i> Soluzione normale di Na Cl		<i>Recipiente A</i> Sangue arterioso fresco	
Temperatura	Pressione in mm. di acqua	Osservazioni	Temperatura	Pressione in mm. di acqua	Osservazioni	
37,40	31	Fermo per 10 minuti, faccio la miscela del sangue con la soluzione di Na Cl.	37,80	22,5	Fisso per 5 minuti, faccio la miscela del sangue colla soluzione normale di NaCl facendo passare solo metà del sangue.	
<i>37,40</i>	<i>33</i>					
37,40	32,5	Dopo 3 minuti.	<i>37,80</i>	25,5		
37,41	31,5	Dopo 10 minuti.	37,80	25,5	Dopo 5 minuti.	
37,39	29	Fermo per 5 minuti, faccio la miscela del sangue con la soluzione di Na Cl.	36,60	20	Dopo 15 minuti.	
			37,60	14	Dopo 30 minuti è fisso per 5 minuti.	
<i>37,39</i>	<i>32</i>		<i>37,60</i>	<i>16</i>	Faccio passare la restante quantità di sangue.	
37,36	31,5	Dopo 5 minuti.	37,70	18,5	Dopo 10 minuti.	
37,39	32	Dopo 15 minuti.				

Dalle osservazioni fatte risultò costantemente che ogni qual volta si fa passare del sangue nella soluzione concentrata di Na Cl o di zucchero, aumenta la pressione nel manometro, cioè per azione dell'aumento di concentrazione nel plasma del sangue si aumenta la tensione dei gas racchiusi nell'apparecchio. La modificazione deve necessariamente essere determinata dai gas del sangue, perchè si ebbe cura di eliminare i gas della soluzione concentrata. Sempre si vede pure che questo aumento di pressione non era dipendente dall'aumento di temperatura, perchè questa rimaneva costante. In alcuni casi si potè perfino constatare aumento di pressione, mentre la temperatura tendeva a diminuire; questi casi servirono a dare la certezza che la dilatazione ed il conseguente aumento di pressione non riconosce un'origine termica. In alcune diecine di prove la media dell'aumento di pressione segnato dal manometro fu di tre millimetri d'acqua, eccezionalmente però quando non sperimentavo sopra sangue fresco, ma su sangue estratto dall'animale molte ore prima, ottenni il valore di 24 mm. o di 12 mm. d'acqua. Questo aumento si manifestava rapidamente e quindi andava lentamente diminuendo. Interpretai questa diminuzione, di cui non potei riscontrare alcuna causa, come dovuta al fatto che il CO₂ messo in libertà venisse sciolto dall'acqua del manometro.

Questi furono i risultati ottenuti dall'esperimento. Essi si accordano perfettamente col concetto che spinse a fare queste determinazioni; la conclusione che noi ci crediamo autorizzati a trarne è che l'aumento di concentrazione del sangue determina un aumento di tensione dei gas contenuti. È quindi probabile che anche nell'animale vivente, per la concentrazione che subisce il sangue circolando nei polmoni, in causa della quantità d'acqua che cede all'aria degli alveoli, si verifichi un aumento passeggero nella tensione dei gas del sangue e si determini perciò il passaggio nell'aria degli alveoli d'una quantità di CO₂ superiore a quella, che corrisponderebbe alla tensione del CO₂ nel sangue non concentrantesi. Non siamo per ora in grado di dire se nell'animale vivo quest'aumento di tensione sia tanto grande da spiegare le notevoli differenze riscontrate specialmente da Bohr e da Haldane tra la tensione del CO₂ del sangue e quella del CO₂ nell'aria degli alveoli polmonari; è certo però che essa deve costituire un fattore importante di quel fenomeno, e dovrà d'ora in avanti essere annoverata fra le cause attive le quali determinano l'uscita del CO₂ dal sangue nell'aria degli alveoli polmonari.

MEMORIE

DA SOTTOPORSI AL GIUDIZIO DI COMMISSIONI.

G. BONARELLI. — *Appunti sulla costituzione geologica dell'isola di Creta.*
Presentata dal Socio TARAMELLI.

P. B.