

den optimalen Wanderungseffekt. Höhere Mengen wirken rasch hemmend. — Auch in diesem Versuch wurde der Vergleich mit Serumzugabe, zusätzlich zur Rekalzifizierung, gemacht. Zugabe von 0,2 cm³ Serum vermag bei 0,07 sowie 0,14 CaCl₂ die Wanderung über die Kalziumwirkung hinaus zu fördern. Interessanterweise ist die Serumwirkung auch dann noch deutlich, wenn das Medium schon eine hemmende Kalziumkonzentration enthält.

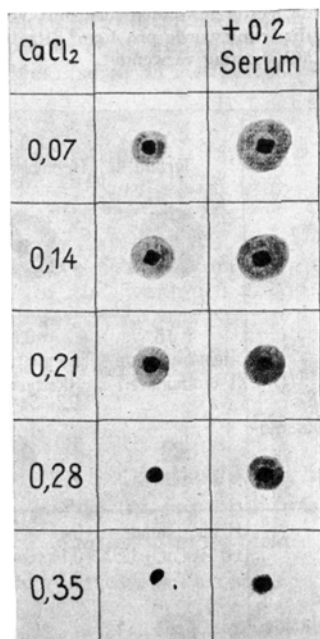


Abb. 3. Wirkung steigender Kalziummengen auf Leukozytenwanderung in Zitratplasma (zweite Reihe unter Serumzugabe).

Die Versuche zeigen, daß die Verhältnisse der Migrationshemmung menschlicher Leukozyten durch tribasisches Natriumzitrat ähnlich liegen wie bei der Phagozytosehemmung gegenüber *E. coli*. Durch Zitrat werden mindestens zwei für die Migration wichtige Elemente «inaktiviert»: 1. Die freien Kalziumionen, 2. Serumfaktoren, deren Natur noch unklar ist. Dies steht in einem gewissen Gegensatz zu den Befunden von DELAUNAY¹, der in der Zitratheftung der Leukozytenwanderung einen bloßen Kalziummangel-effekt sieht — allerdings arbeitete er mit sehr aktiven Exsudatleukozyten —. In ihrer Wanderungsfähigkeit durch Zitrat gehemmte Leukozyten erlangen wieder volle Beweglichkeit nach Zufuhr von Kalziumionen und «Serumfaktor».

M. ALLGÖWER

Chirurgische Universitätsklinik Basel, den 12. Juli 1949.

Summary

In the inhibition of the migration of human leucocytes by tribasic sodium citrate conditions are similar to those in the inhibition of phagocytosis directed against *E. coli*. At least two elements important for the migration are inactivated by citrate: (1) the free calcium ions, (2) serum factors whose nature is yet unclear. The inhibition of the migration of leucocytes by sodium citrate is reversible. Leucocytes inhibited by citrate acquire full capacity to migrate again after addition of calcium ions and «serum factor».

¹ A. DELAUNAY, Ann. Inst. Pasteur 70, 372 (1944).

Curve di solubilità delle proteine plasmatiche in miscele acqua-metanolo a freddo

La dimostrata utilità dell'impiego di solventi organici nel frazionamento di miscele proteiche (COHN e coll.¹) mi ha suggerito lo studio di curve di solubilità delle proteine plasmatiche in soluzioni di metanolo a concentrazione crescente, a bassa temperatura, in alcune condizioni di p_H e di forza ionica. Lo scopo prefisso era l'elaborazione di un micrometodo di frazionamento plasmatico che allargasse alla differenziazione delle globuline la tecnica proposta da PILLEMER e HUTCHINSON².

Ogni curva consisteva di 32 frazionamenti, nei quali rimaneva costante la forza ionica, mentre veniva variata la concentrazione (in volume) di metanolo di 2 in 2% tra 0 e 62%. Il plasma utilizzato (plasma ossalato proveniente da soggetti adulti normali) veniva tamponato con soluzioni di acetato di sodio di p_H e forza ionica (μ) note; il p_H risultante dalla miscela plasma + tampone veniva determinato con potenziometro. La forza ionica finale (dopo l'aggiunta di metanolo) venne valutata essere 0,036 in 6 curve, attribuendo al plasma una forza ionica di 0,16 (secondo VAN SLYKE e coll.³). Per una curva venne usato un tampone di fosfato di potassio 0,3 molare p_H 6,5; la forza ionica finale in questo caso fu valutata essere 0,092. La gamma di p_H venne scelta tra 6 e 7, cioè in una zona intermedia tra i valori utilizzati da COHN e coll. per il frazionamento dei vari gruppi di globuline, aspirando a raggiungere, in queste condizioni, la differenziazione più netta possibile per il maggior numero di componenti. Le singole operazioni, dopo l'aggiunta del tampone, venivano eseguite a t di -1° , -2° : dopo l'aggiunta di metanolo i campioni venivano mantenuti per mezz'ora a t di -1° , -2° ; indi centrifugati per 15' a 2000 giri in centrifuga raffreddata a t di -1° , -2° . Sul soprastante veniva determinato in doppio campione l'azoto proteico con incenerimento, distillazione in corrente di vapore e titolazione finale iodometrica.

L'andamento delle curve presentate, fig. 1, ricorda in modo molto evidente l'aspetto generale delle curve di salatura con sali neutri (fosfato di sodio BUTLER e MONTGOMERY⁴; LEUTHARDT e WUHRMANN⁵; DERRIEN⁶; et al.; solfato di sodio: HOWE⁷; MAJOR⁸); tuttavia la differenziazione delle singole frazioni sembra essere più netta. Sono riconoscibili almeno 9 componenti, talora nettamente separati dai contigui, altre volte parzialmente sovrappontentisi. I singoli accidenti si ripetono, nelle varie curve, con simile fisionomia e posizione: tra le variazioni di posizione osservabili, talune possono con una certa probabilità essere attribuite a variazione del p_H : così il componente precipitante tra 22 e 24% di metanolo a p_H 6,95 pare paragonabile con quello precipitato tra 30 e 34% di metanolo a p_H 6,1–6,2. Altre irregolari e, di regola, meno marcate differenze nella posizione dei singoli tratti nelle varie curve sono più difficilmente interpretabili, mentre non si può escludere che possano rientrare nell'ambito dell'errore sperimentale. L'aumento della forza ionica da 0,036 a 0,092 non ha

¹ E. J. COHN, T. L. McMEKIN, J. L. ONCLEY, J. M. NEWELL e W. L. HUGHES, iun., J. Amer. Chem. Soc. 62, 3386 (1940).

² L. PILLEMER e M. C. HUTCHINSON, J. Biol. Chem. 158, 299 (1945).

³ D. D. VAN SLYKE, H. B. HASTINGS, C. D. MURRAY e J. SENDROY, iun., J. Biol. Chem. 65, 701 (1925).

⁴ A. M. BUTLER e H. MONTGOMERY, J. Biol. Chem. 99, 173 (1933).

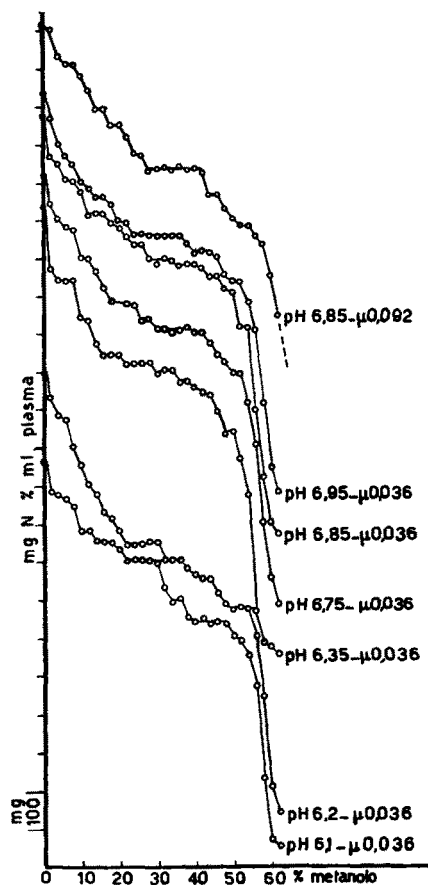
⁵ F. LEUTHARDT e F. WUHRMANN, Klin. Wschr. 17, 409 (1938).

⁶ Y. DERRIEN, Travaux Soc. Chim. Biol. 26, 1, 1091 (1944).

⁷ P. E. HOWE, J. Biol. Chem. 49, 93 (1921).

⁸ C. H. MAJOR, J. Biol. Chem. 169, 583 (1947).

condizionato differenze sostanziali nell'aspetto della curva. In queste condizioni si nota un lieve spostamento della zona di precipitazione di alcune delle frazioni meno solubili ed uno più marcato di quelle più solubili, verso concentrazioni più elevate di metanolo, ad espressione di un effetto solubilizzante; non si nota una apprezzabile modificazione del potere risolutivo del metodo.



Sebbene non sia possibile una definizione delle singole frazioni nei termini della corrente nomenclatura elettroforetica, il confronto dei valori quantitativi percentuali ed una serie di considerazioni teoriche ed analogiche portano a definire come albumina la frazione solubile fino al 50–52% di metanolo a p_H 6–7 ed a μ 0,036. La frazione suddetta appare spesso come la somma di 2 distinti componenti di solubilità assai vicina e rappresenta nella sua totalità il $52,7 \pm 1,1\%$ delle proteine totali.

Per quanto riguarda le frazioni globuliniche, quelle precipitabili tra 34 e 50–52% di metanolo, nelle condizioni suddette di p_H e di forza ionica, sono costituite abitualmente da 2 distinti componenti e potrebbero essere paragonate, in via presuntiva, alla pseudoglobulina di MAJOR e alla frazione IV di COHN, in base al fatto che la loro zona di precipitazione è la più vicina a quella delle albumine, ed alla corrispondenza approssimativa dei valori rispettivi (0,92 g di proteina, in media, per cento ml di plasma nella frazione 34/50–52% di metanolo; gm 0,97% nella frazione IV di COHN¹; rispettivamente il 12 e il 14% delle proteine totali). Nella zona

compresa tra 0 e 34% di metanolo sono riconoscibili numerosi componenti distinti (5 o 6) dei quali taluni parzialmente sovrapposti, così da renderne poco precisa una valutazione quantitativa. È sempre bene evidente una frazione precipitante tra 0 e 6–8% di metanolo tra p_H 6,1 e 6,95. Essa rappresenta costantemente una frazione troppo elevata dell'azoto proteico totale (13,4% in media) perché possa essere identificata con il fibrinogeno. Uno studio più accurato di tale zona (frazionamento di siero e plasma provenienti da uno stesso campione di sangue) dimostra come il fibrinogeno precipiti tra 0 e 1% di metanolo, a p_H 6,1, μ 0,036, essendo ridotto il tratto di curva corrispondente nel siero, sebbene non completamente annullato. A p_H 6,7, μ 0,036 la zona di precipitazione del fibrinogeno, dedotta in base a criterio analogo, appare essere tra 0 e 2% di metanolo; anche in queste condizioni il tratto di curva corrispondente nel siero non viene annullato.

Come ultima precisazione è opportuno notare che la determinazione contemporanea dell'azoto e del fosforo organico sul soprastante ha permesso di dimostrare una costante precipitazione di notevoli quantità di lipoproteine tra l'8 e il 18% di metanolo. Non è quindi improbabile che in tale zona precipiti una quota importante di β -globuline.

Solo ulteriori ricerche potranno precisare meglio il significato dei singoli tratti di curva in rapporto ai risultati di altri metodi di frazionamento. D'altra parte il notevole potere risolutivo delle curve di frazionamento in metanolo a freddo può forse conferire a questa metodica un suo valore nello studio analitico di miscele proteiche.

Per quanto riguarda l'obiettivo pratico propostomi, dell'elaborazione cioè di un micrometodo di frazionamento, l'esame delle curve di solubilità giustifica la suddivisione delle proteine plasmatiche in 4 gruppi, frazionabili con metanolo al 6, 34, 52% di metanolo a p_H 6,75–6,95 e $\mu \cong 0,036$. Per la determinazione del fibrinogeno è sempre consigliabile un metodo basato sulla «coagulabilità» dello stesso.

A. FASOLI

Istituto di Patologia Medica e Metodologia Clinica dell'Università di Milano, il 30 maggio 1949.

Summary

Solubility curves of plasma proteins in cold water-methanol mixtures at p_H 6.1–6.95 and ionic strength 0.036–0.092 are described. The shape of the curves thus obtained resembles that of salting-out curves obtained by using concentrated neutral salts: nevertheless the "resolution power" seems to be higher with methanol.

An interpretation of some of the segments of the curves has been attempted.

On the basis of the evidence obtained a micro-method for plasma-proteins fractionating is proposed (using 6, 34, 52% methanol at p_H 6.75–6.95, $\mu \cong 0.036$).

Il contenuto istaminico del polmone in rapporto al pneumotorace artificiale e all'azione locale della papaina

Le attività biologiche di difesa istogena e umorale suscitate dal pneumotorace (pnx), sarebbero da riferire alla massiva mobilitazione degli elementi del sistema reticolo-istocitario (S.R.I.) del polmone collassato (il primo fondamentale contributo sperimentale

¹ E. J. COHN, L. E. STRONG, W. L. HUGHES, iun., D. J. MULFORD, J. ASHWORTH, M. MELIN e H. L. TAYLOR, J. Amer. Chem. Soc. 68, 459 (1946).