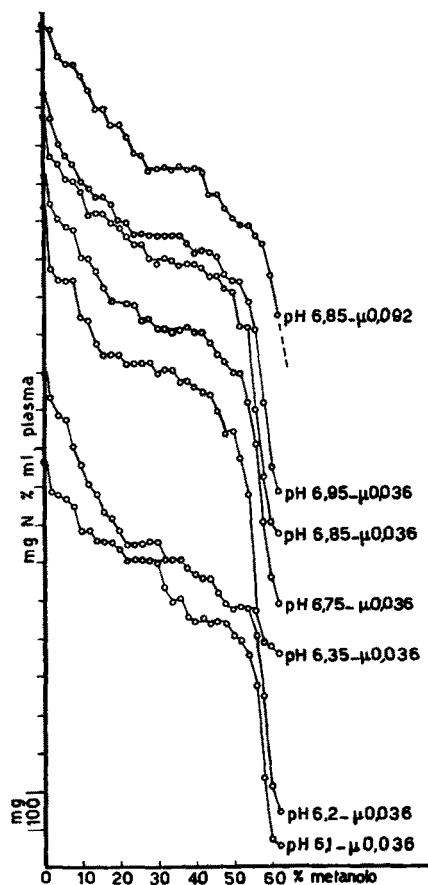


condizionato differenze sostanziali nell'aspetto della curva. In queste condizioni si nota un lieve spostamento della zona di precipitazione di alcune delle frazioni meno solubili ed uno più marcato di quelle più solubili, verso concentrazioni più elevate di metanolo, ad espressione di un effetto solubilizzante;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

fu portato da CHINI¹) e alla liberazione di sostanze attive tessutali: l'intervento di queste sembrerebbe, secondo recenti ricerche di uno di noi (ZACCO²), mediatore della reazione mesenchimale di difesa.

La specificità dei rapporti esistenti fra stimolo istaminico e reazione difensiva del S.R.I.², costituisce il presupposto dell'attuale studio sperimentale, inteso a fornire ancora un esempio della associazione, probabilmente non casuale, di questi due fenomeni istogeni: — attivazione dell'istamina tessutale e mobilitazione difensiva del connettivo, in risposta ad uno stesso stimolo.

Con ciò non intendiamo di escludere l'eventuale intervento di altre sostanze attive dei tessuti (colina, acetilcolina, adenosina, leucotassina, peptoni, polipeptidi, altre sostanze non meglio identificate, ecc.).

Il tema sperimentale ci è stato suggerito dal nostro Direttore, ill.^{mo} prof. CHINI.

Abbiamo eseguito con il metodo di CODE³ la titolazione del contenuto istaminico di polmoni di cavie adulte (300–350 g) non trattate e di altre sottoposte a pnx artificiale o a trattamento papainico locale.

In 13 animali non trattati, i valori risultano compresi fra 9 e 26 γ di istamina base per 1 g di organo (valori corrispondenti, fra 12 e 33 γ /g, sono citati in GUGGENHEIM⁴): — la media aritmetica dei risultati delle nostre determinazioni è uguale a 14,43 γ /g (vedi tabella).

Tabella

Equivalente istaminico di polmoni di cavie
Valori espressi in istamina base γ /g di organo

N.º	polmoni non trattati	polmoni trattati con pnx, prelevati				polmoni trattati con papaina prelev. dopo 5 dì
		dopo 30'	dopo 3 h	dopo 7 h	dopo 5–7 dì	
1	9,00	7,20	7,05	13,10	11,98	15,90
2	9,00	9,72	9,81	17,64	11,99	20,47
3	9,37	8,73	17,76	19,00	15,44	23,70
4	9,99	9,00	21,60	20,36	19,99	27,96
1	10,58	9,60			22,62	32,94
6	11,99	10,58			22,68	34,46
7	12,54				23,97	
8	12,64				25,92	
9	17,90				27,41	
10	18,00				28,77	
11	19,18				29,09	
12	20,80				30,24	
13	26,60				33,30	
14					35,16	
Valore medio ..	14,43	8,97	14,30	17,52	24,30	25,90
Val. percentuale	100	62,16	99,09	121,41	168,39	179,48

Preparazione dei polmoni di cavia per la titolazione: I polmoni, prelevati, lavati in soluzione fisiologica, asciugati su carta assorbente, pesati, venivano rapidamente trasformati in poltiglia con sabbia di quarzo; infine, trasferiti in una beuta con 10 cc di soluzione fisiologica; seguiva immediata deproteinizzazione mediante 15 cc di ac. tricloroacetico al 10%; dopo circa 2 h filtrazione; ebollizione del filtrato per 90', previa aggiunta di 10 cc di HCl; essiccamento a depressione,

con aggiunta di alcool 95° in bagno maria 70° C; recupero del materiale essiccato con 10–20 cc di H₂O; filtrazione del liquido; neutralizzazione del filtrato con NaOH; diluizione a 40–80 cc con H₂O e titolazione del contenuto istaminico del liquido in esame su ileo terminale di cavia, contro quantità note di istamina bicloridrato (Imido Roche), secondo CODE.

28 animali sono stati pneumotoracizzati (il pnx nella cavia risulta sempre bilaterale); il prelievo dei polmoni è stato eseguito dopo 30' (1° gruppo, 6 cavie), dopo 3 h (2° gruppo, 4 cavie), dopo 7 h (3° gruppo, 4 cavie), dopo 5–7 giorni (4° gruppo, 14 cavie), dall'intervento.

6 animali sono stati iniettati per via endopleurica con una piccola dose, non shockante, di papaina (Merck) (agente enzimatico istamino-liberatore); il prelievo dei polmoni è stato eseguito 5–7 giorni dopo l'intervento.

I risultati possono essere riassunti nei seguenti termini:

1° 30' dopo il collasso, il contenuto istaminico dei polmoni di cavia è diminuito del 37,84% (calcolo eseguito sui valori della media aritmetica delle due serie di dati, ottenuti da cavie normali e trattate).

2° 3 h dopo il pnx, i polmoni collassati hanno recuperato la quasi-totalità della primitiva riserva istaminica: il deficit sarebbe appena del 0,91%.

3° 7 h dopo il collasso, i polmoni presentano un contenuto istaminico medio che supera del 21,41% la media dei valori normali.

4° 5–7 giorni dopo l'intervento pneumotoracico la riserva istaminica dei polmoni collassati risulta del 68,39% più elevata della riserva istaminica dei polmoni normali.

5° Il trattamento locale papainico sembra aver determinato, come nel caso del pnx, un evidente tardivo accumulo di istamina, pari al 79,48%, oltre il valore medio normale.

Il trattamento pneumotoracico¹ e quello papainico² provocano la massiva mobilitazione difensiva degli elementi del S.R.I.

Questa reazione mesenchimale del tessuto, suscitata localmente e anche a distanza (midollo osseo, milza, ecc.), insorge tardivamente rispetto al momento dello stimolo e va crescendo di intensità ed efficienza con il passare dei giorni, entro determinati limiti di tempo³.

Noi crediamo di intravedere una stretta parentela nell'andamento delle due reazioni istogene, quella mesenchimale, nelle sue manifestazioni istologiche, e quella biochimica, rivelatasi nei risultati forniti dalla nostra ricerca.

Presenta un certo interesse richiamare, in proposito, alcuni dati sperimentali:

BORGHI⁴, TARANTINO⁵, PASQUINELLI⁶, hanno trovato evidenti rapporti fra istamina e processi rigenerativi dei tessuti.

JANCSÓ⁷ e BIOZZI, MENÈ, OVARY⁸ hanno accertato l'esistenza di un rapporto specifico fra stimolo istaminico e funzione granulopessica delle cellule endote-

¹ V. CHINI, Arch. Ist. Bioch. It. 1, 121 (1930).

² M. ZACCO, Fisiologia e Medicina 10, in corso di stampa (1949). — C. PANÀ e M. ZACCO, Ann. Ist. C. Forlanini 4, 453 (1949).

³ V. CHINI, Arch. Ist. Bioch. It. 1, 121 (1930). — M. ZACCO, Fisiologia e Medicina 10, in corso di stampa (1949). — C. PANÀ e M. ZACCO, Ann. Ist. C. Forlanini 4, 453 (1949).

⁴ B. BORGHI, Boll. Soc. It. Biol. Sper. 9, 970 (1940).

⁵ C. TARANTINO, ib. 9, 957 (1940).

⁶ F. PASQUINELLI, ib. 9, 960 (1940).

⁷ M. JANCSÓ, Z. ges. exp. Med. 64, 256 (1929).

⁸ G. BIOZZI, G. MENÈ e Z. OVARY, Lo Sperimentale 7–8, 341 e 352 (1949).

¹ V. CHINI, Arch. Ist. Bioch. It. 1, 121 (1930).

² M. ZACCO, Fisiologia e Medicina 10, in corso di stampa (1949).

³ C. F. CODE, J. Physiol. 89, 257 (1937).

⁴ M. GUGGENHEIM, Die biogenen Amine, p. 360 (Karger, Basel 1940).

liali dei vasi, cellule che estemporaneamente partecipano delle funzioni del S. R. I.

Uno di noi, ZACCO¹, ha riscontrato, in rapporto a diverse condizioni sperimentali: iniezione locale di istamina, di papaina, di un antigene (previa sensibilizzazione locale mediante trasporto passivo), imponente reazione istiocitaria del polmone di cavia; l'uso preventivo di un prodotto antiistaminico di sintesi inibisce in maniera apprezzabile la reazione mesenchimale da papaina.

M. ZACCO e C. FERRARA

Istituto di Clinica Medica dell'Università di Bari, il 18 giugno 1949.

Zusammenfassung

Die Autoren bestimmen den Histamingehalt von Meerschweinchenlungen nach Anlegung eines Pneumothorax, nach lokaler Reizung mit Papain und bei normalen Kontrolltieren.

Der Histamingehalt sinkt zunächst sofort nach Herstellung eines Pneumothorax, steigt aber nach einigen Stunden wieder an und bleibt während mehrerer Tage über den Normalwert erhöht.

Die Reizung der Lunge durch eine lokale Injektion von Papain gibt, ähnlich wie der Pneumothorax, eine nach einiger Zeit auftretende Erhöhung des Histamingehalts.

¹ M. Zacco, *Fisiologia e Medicina* 10, in corso di stampa (1949).

Antihistaminic Substances and Epinephrine Action on Blood Pressure

At present there is no generally accepted opinion as regards the influence of antihistaminic drugs on the action of epinephrine on blood-pressure (cf. for instance LOEW¹. Recently GRAHAM² has shown that in the spinal cat high doses of Neoantergan inhibit the pressor response to epinephrine. The author has studied the blood-pressure of unanæsthetized rats with the technique developed by KERSTEN³ and coworkers. It was possible to demonstrate that Neoantergan in doses of 10 mg/kg body-weight enhanced the pressor response to epinephrine, whereas doses of 50 mg/kg entirely abolished it. In additional experiments it was shown that Antastene in doses of 50 mg/kg inhibited the pressor response to epinephrine in unanæsthetized rats and guinea-pigs. Further work on this subject is in progress with the possibility in mind that the effect could be explained as a competitive inhibition between inhibitors.

L. B. LÖFGREN

Institute of Physiology, University of Uppsala, Sweden, July 13, 1949.

Zusammenfassung

Bei nichtnarkotisierten Ratten verstärken kleine Dosen von Neoantergan die Adrenalinwirkung auf den Blutdruck. Andererseits sieht man, daß große Neoantergandosen diese Blutdrucksteigerung ganz verhindern. Bei nichtnarkotisierten Ratten und Meerschweinchen eliminieren große Dosen von Antastene die Adrenalinwirkung auf den Blutdruck. Die Beobachtung wird an anderer Stelle ausführlicher geschildert werden.

¹ E. R. LOEW, *Physiol. Rev.* 27, 542 (1947).

² J. D. P. GRAHAM, *J. Pharmacy Pharmacol.* 1, 17 (1949).

³ H. KERSTEN, W. G. BROSENE, JR., F. ABLONDI, and Y. SUBBAROW, *J. Lab. Clin. Med.* 32, 1090 (1947).

On the Influence of Temperature on the HCl-formation and the Oxygen Consumption of the Stomach

Experimental determinations of the hydrochloric acid secretion rate of the stomach and the accompanying oxygen consumption have received considerable attention in recent years in connexion with discussions on the mechanism of the HCl production¹⁻⁵. So far no conclusive results have been obtained as to a possible quantitative relationship: TEORELL¹ (cat's stomach) anticipates one, but points out that under his conditions the thermodynamic "efficiency" was too low, a fact which tends to obscure a possible relation. DAVIES⁵ (isolated frog's stomach) finds an increase in Q_{O_2} after histamine stimulation (l. c. Fig. 3) but records only two cases with concomitant HCl determinations (l. c. Table 4). The present note intends to contribute to these problems by measurements of the temperature influence upon the factors in question, i. e. the rate of HCl production and the related O_2 consumption.

Isolated frog's stomach mucosa was used and the technique was in principle the same as described previously^{3, 5, 6}, with provisions added for good temperature control. The HCl secretion was received in a small volume of 0.1 N NaCl and the rate of H^+ ion secretion measured from continuous p_H -time records (glass electrode). The conventional gasometric procedure for oxygen consumption (Q_{O_2}) was employed: immediately after a well-established, constant secretion period (induced with histamine) the mucosa piece (c. 10 mg) was transferred to the Warburg apparatus in frog's phosphate-saline + 100% O_2 . Secretion tests and gasometric analyses were performed on each of a total of 25 mucosa membranes in groups of four to six experiments at 15°, 20°, 25°, 28° and 33°C⁷, respectively.

The temperature influence on the HCl secretory rate, respectively the Q_{O_2} , was expressed in terms of the customary Arrhenius-van't Hoff equation⁸

$$\log K_T = -\Delta E / (4.575 T) + C \text{ (a constant)}$$

derived from a plot of $\log K_T$ against $10^3/T$. K_T is $[H^+]$ or $|Q_{O_2}|$ and $T = (273 + C^\circ)$. The best fit of the experimental point groups was calculated as a straight "regression line" according to usual statistical methods⁹. The temperature effect on the respective rate is here determined by $-\Delta E$ calories/mole, the "energy of activation".

The results are summarized in the following table.

The Temperature Coefficient: A common way of expressing the influence of temperature is the use of the "temperature coefficient", Q_{10} . It can, for the temperature interval 15°–25°C, be rather exactly calculated as $\text{antilog}^{10} (25.3 \times 10^{-6} \cdot \Delta E)$. Hence Q_{10} for the H^+ secretion is 3.2 (probable variation limits 2.8–3.8) and Q_{10} for the O_2 -consumption is 2.2 (limits 2.0–2.4). The ΔE 's, respectively the Q_{10} 's, found are of the order generally found for chemical processes¹, but the exact significance

¹ T. TEORELL, *Skand. Arch. Physiol.* 66, 225 (270) (1933).

² C. LUTWAK-MANN, *Biochem. J.* 19, 19 (1947).

³ R. E. DAVIES, N. M. LONGMUIR, and E. E. CRANE, *Nature* 159, 468 (1947).

⁴ E. E. CRANE and R. E. DAVIES, *Proc. Biochem. Soc.* (24 Sept. 1948).

⁵ R. E. DAVIES, *Biochem. J.* 42, 609 (1948).

⁶ T. TEORELL and R. WERSÄLL, *Acta physiol. Scand.* 10, 243 (1945).

⁷ Above 33°C heat damage starts.

⁸ See for instance: H. BULL, *Physical Biochemistry*, p. 23 (New York, 1943). – A. KANITZ, *Temperatur und Lebensvorgänge* (Berlin 1915). – Y. BELEHRÁDEK, *Temperature and Living Matter* (Berlin, 1935).

⁹ A. C. WORTHING and J. GEFFNER, *Treatment of Experimental Data*, Chap. XI, XII (New York, 1943).