



~~311578~~

RENDICONTI DELLA R. ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI

Classe di Scienze fisiche, matematiche e naturali.

Estratto dal vol. XXIII, serie 6^a, 1^o sem., fasc. 5. - Roma, marzo 1936-XIV

Fisiologia (Chimica fisiologica). — *Sulla cristallizzazione della carbossiemoglobina del sangue essiccato di varie specie animali, e su una particolare regola di applicazione medico-legale* ⁽¹⁾.
Nota di E. BIOCCA, presentata ⁽²⁾ dal Corrisp. S. BAGLIONI.

È noto che l'emoglobina può cristallizzare sia sotto forma di emoglobina ridotta che di ossiemoglobina.

G. Amantea ⁽³⁾ — come noi stessi abbiamo avuto occasione di ricordare altrove ⁽⁴⁾ —, utilizzando il noto metodo della saponina (elaborato insieme con Krzyzskowsky), aveva potuto studiare, separatamente, per molti sangui, i cristalli di ossiemoglobina e di emoglobina ridotta, indagando il comportamento, a questo riguardo, delle singole e numerose specie considerate. Appunto il metodo della saponina gli permise di eseguire osservazioni con tecnica uniforme, adatta a stabilire confronti adeguati, nonchè a porre delle regole, senza dubbio valide per le condizioni di osservazione adottate. Egli era riuscito così a stabilire, che i cristalli di emoglobina ridotta e di ossiemoglobina non si ottengono sempre e con la stessa facilità in ogni caso. Da questo punto di vista, anzi, risultarono nette differenze di comportamento, che permisero la distinzione di quattro tipi diversi di sangue: 1) Quelli in cui, nelle sue condizioni di tecnica, l'emoglobina cristallizza in tutte e due le forme (ossiemoglobina ed emoglobina ridotta). 2) Quelli in cui l'emoglobina cristallizza solo come ossiemoglobina. 3) Quelli in cui cristallizza solo come emoglobina ridotta. 4) Quelli, infine, che non danno mai cristalli nè di emoglobina ridotta nè di ossiemoglobina.

In un nostro precedente lavoro ⁽⁵⁾, in cui studiavamo il comportamento

(1) Lavoro eseguito nell'Istituto di Chimica fisiologica della R. Università di Roma.

(2) Nella seduta del 1^o marzo 1936.

(3) G. AMANTEA e KRZYSKOWSKY, *Sulla cristallizzazione dell'emoglobina*. « Archivio Fisiol. », vol. XVIII, fasc. I-VI, 1919-20; G. AMANTEA, *La cristallizzazione dell'emoglobina studiata col metodo della saponina*. « Ibid. », vol. XXI, fasc. II, 1923.

(4) E. BIOCCA, *Sul diverso comportamento del sangue di varie specie animali nei riguardi della cristallizzazione della carbossiemoglobina*. « Rendiconti Accademia dei Lincei », vol. XX, ser. 6^a, sem. II, fasc. 12, 1934.

(5) E. BIOCCA, loc. cit.

Man
B
55
50



del sangue di varie specie animali nei riguardi della cristallizzazione della carbossemoglobina, utilizzando i dati citati e il metodo della saponina di G. Amantea, avevamo potuto constatare: 1) che la cristallizzazione della carbossemoglobina si ottiene, costantemente, solo per quei sangui, che, esplorati in condizioni ordinarie, cioè senza il trattamento con ossido di carbonio, sono capaci di fornire cristalli di ossiemoglobina (diano o non diano insieme pure quelli di emoglobina ridotta); 2) che la cristallizzazione della carbossemoglobina non si ottiene mai da sangui, che, nelle stesse condizioni e senza ossido di carbonio, non danno cristalli di sorta, ovvero li danno soltanto di emoglobina ridotta.

Da questi fatti, bene accertati, traevamo la conseguenza, che, siccome il sangue umano appartiene appunto a quest'ultima categoria, e cioè al gruppo di sangui, che, col metodo della saponina, danno cristalli soltanto di emoglobina ridotta e mai di ossiemoglobina (Amantea), ne deriva la seguente regola di applicazione medico-legale:

Un sangue, che, emolizzato con saponina e trattato con ossido di carbonio, si riveli capace di fornire cristalli di carbossemoglobina, non è sangue umano.

Ma in questo nostro precedente lavoro ci eravamo sempre riferiti ad osservazioni fatte su sangui freschi. Già da molto tempo, però, lo stesso Amantea⁽¹⁾ aveva preso in considerazione la cristallizzazione dell'emoglobina da sangui disseccati, ed era giunto alla conclusione, che, dopo pochi giorni di essiccamento, l'ossiemoglobina non si può più ottenere cristallizzata, mentre si continua a poter ottenere cristalli di emoglobina ridotta, anche da sangui (del 1° e 3° tipo) da molto tempo essiccati.

Era logico, che, stando a tale punto le cose, noi cercassimo di esplorare il comportamento della cristallizzabilità della carbossemoglobina su sangui diversi, previamente essiccati, e da un tempo più o meno lungo.

Qualora il comportamento della carbossemoglobina si fosse rivelato simile a quello della emoglobina ridotta, se ne sarebbero potute trarre conclusioni, che avrebbero avvalorato, dal punto di vista dell'interesse medico-legale, la regola da noi già stabilita sperimentando sui sangui freschi, e sopra ricordata.

Ricerche sulla cristallizzazione dell'emoglobina da sangui essiccati, oltre che da G. Amantea, erano state anche fatte prima con scopi medico-legali da altri Autori; noi rimandiamo al lavoro citato dello stesso G. Amantea, per le notizie complete al riguardo.

Nelle ricerche nostre, per avere cristalli dal sangue essiccato, ci siamo serviti dello stesso metodo già usato e descritto da G. Amantea. Precisamente facevamo essiccare il sangue su lastre di vetro o su piatti smaltati. Quindi, per le singole prove, frammenti secchi del sangue da esplorare di-

(1) G. AMANTEA, *La cristallizzazione dell'emoglobina dal sangue disseccato*. «Zacchia», n. 3, maggio-giugno 1924.

sponevamo in provette, aggiungendo una quantità opportuna di acqua distillata, in modo da poter ottenere, a dissolvimento completo, una soluzione di emoglobina, sufficientemente concentrata. La proporzione conveniente è risultata di regola quella di una parte di sangue secco per due o tre di acqua. Ottenuta la dissoluzione completa — per cui in genere bastano 24 ore, — 2-3 cm. della soluzione si deponevano su un grande vetrino portaoggetti (di 8-10 cm. di lato), e vi si sovrapponeva un coprioggetti, pure di grandi dimensioni, e precisamente a piano inclinato, come consiglia G. Amantea, cioè facendolo poggiare da un lato su un piccolo cuscinetto di ovatta o di carta (di un paio di mm. di spessore), ovvero meglio su una assicella di vetro.

Tale espediente serve effettivamente molto bene ad assicurare il buon risultato delle prove. Così infatti, per lenta evaporazione si concentra tutta la soluzione da una parte nel preparato, e non si formano bolle di aria nell'interno di essa. In tale modo si operava per allestire i preparati, che dovevano servire di controllo, fornendo, o non, cristalli di emoglobina ridotta o di ossiemoglobina. Per quelli invece, destinati alle osservazioni sul comportamento della carbossiemoglobina, si seguiva la stessa tecnica sostanziale, ma con la differenza che, dopo aver ottenuto la dissoluzione dei frammenti secchi in acqua distillata, si faceva gorgogliare nella soluzione ossido di carbonio (ricorrendo, come sorgente, al gas illuminante), fino ad ottenere la evidente trasformazione dell'emoglobina in carbossiemoglobina (e valutando dal viraggio verso il colore caratteristico). Col sangue così trattato, si allestivano i preparati — di solito più preparati — per ciascuna esperienza. Qualche volta, disponendo di scarsa quantità di soluzione, abbiamo ottenuto anche buoni risultati, disponendone due o tre gocce, su un comune porta-oggetti, adagiandovi sopra un comune vetrino copri-oggetti e chiudendo con balsamo.

Abbiamo utilizzato — essiccati — gli stessi sangui esplorati come tali (o freschi) nelle precedenti ricerche sulla carbossiemoglobina⁽¹⁾. Per ogni sangue si facevano i primi accertamenti dopo pochissimi giorni di essiccamento; quindi si continuavano ad esplorare periodicamente per parecchi mesi successivi (fino a un massimo di circa otto mesi). In ogni caso la metà della soluzione allestita serviva a preparare una prova di controllo (per l'emoglobina ridotta e l'ossiemoglobina), e l'altra metà per gli accertamenti sulla carbossiemoglobina.

Riassumiamo brevemente i risultati ottenuti:

1° Concordemente coi precedenti rilievi, fatti al riguardo da G. Amantea, abbiamo osservato, che si possono ottenere cristalli di ossiemoglobina da qualsiasi sangue essiccato, il quale sia capace di darli anche allo stato di sangue fresco; ma di regola non è più possibile ottenerne dopo 8-12 giorni dall'essiccamento;

(1) E. BLOCCA, loc. cit.

2° Una volta scomparsa la capacità a cristallizzare dell'ossiemoglobina, pei sangui capaci di fornire normalmente col metodo della saponina anche cristalli di emoglobina ridotta, abbiamo continuato — come già prima G. Amantea — a ottenere cristalli di quest'ultima, e persino da sangui essiccati da otto mesi; lo stesso vale pei sangui, che normalmente forniscono soltanto cristalli di emoglobina ridotta.

3° La possibilità dell'emoglobina di cristallizzare come carbossiemoglobina, per quei sangui che la posseggono normalmente, non cessò mai dopo l'essiccamento, e si mantenne immutata in tutte le nostre prove, anche in quelle eseguite su sangui essiccati da oltre otto mesi.

4° Pei sangui, che normalmente non forniscono mai cristalli, nè di ossiemoglobina nè di emoglobina ridotta, si mantiene la refrattarietà immutata pure dopo l'essiccamento e altresì dopo trattamento con ossido di carbonio.

È evidente e ovvio, che, in base ai nostri nuovi risultati, la regola da noi stabilita, sperimentando con sangui freschi, e sopra ricordata, rimane integrata ed estesa, da poter essere in modo più completo formulata come segue:

Un sangue che — se fresco, dopo emolisi con saponina, e, se essiccato pur da parecchi mesi, dopo averlo ripreso con opportuna quantità di acqua distillata — trattato con ossido di carbonio, si riveli capace di fornire cristalli di carbossiemoglobina, non è sangue umano.

55776

