

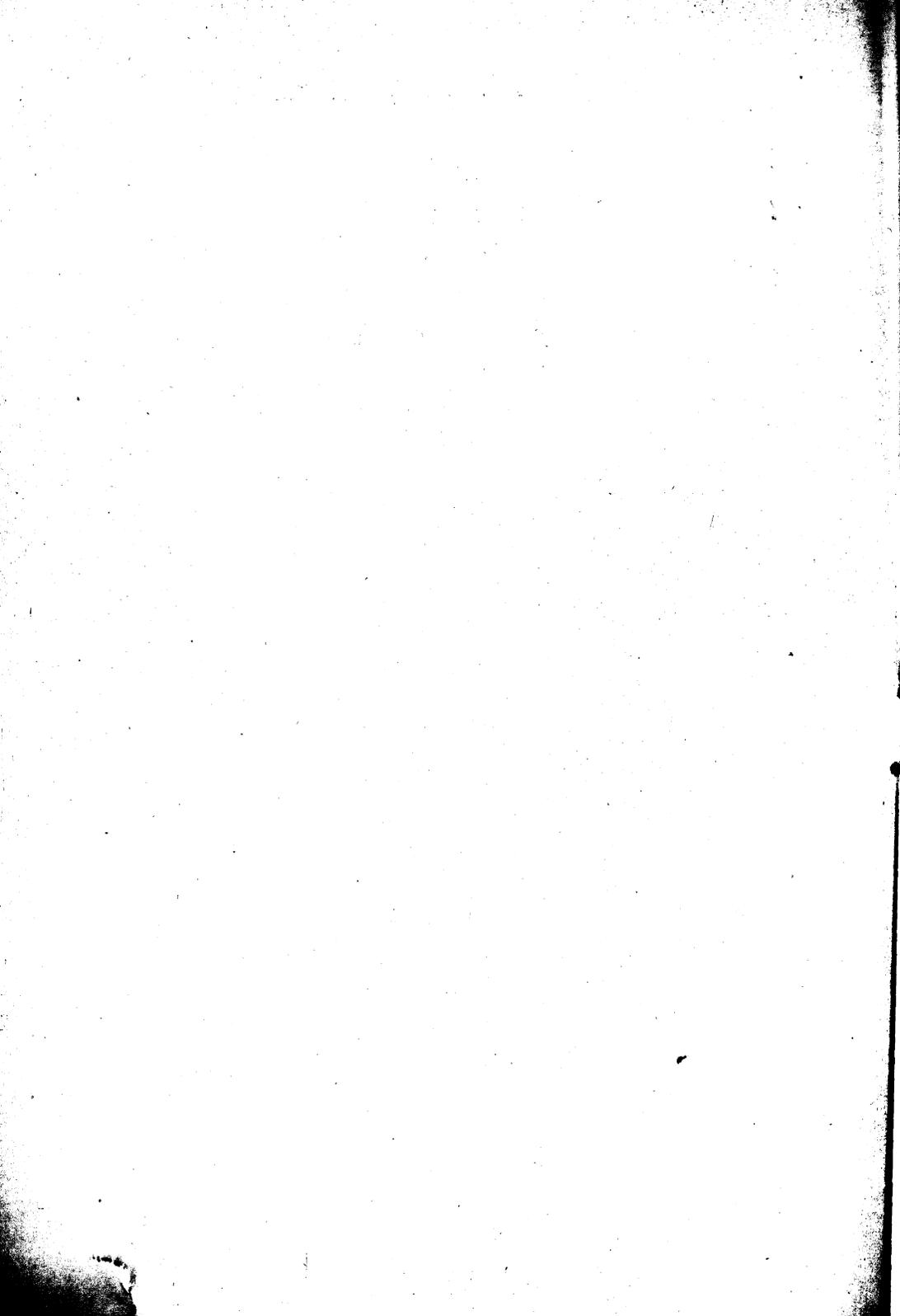
Ms. B731 74.

Dott. FRANCO BOSCARDI

**ANALISI DIFFOGRAFICA DEL
PLASMA NELL'UREMIA VERA**

Estratto dal **BOLLETTINO E ATTI**
DELLA R. ACCADEMIA MEDICA DI ROMA
Anno LXIX (1943) - Fasc. 5

DITTA TIPOGRAFIA CUGGIANI
ROMA - VIA DELLA PACE, 35
1943



ISTITUTO DI CLINICA MEDICA DELLA R. UNIVERSITÀ DI ROMA
Direttore: PROF. C. FRUGONI

DOTT. FRANCO BOSCARDI

ANALISI DIFFOGRAFICA DEL PLASMA
NELL'UREMIA VERA

*Comunicazione alla Seduta del 28 maggio 1943
della Reale Accademia Medica di Roma*



Nel 1937 BUCHER [1] comunicava in un lavoro monografico i risultati delle sue ricerche sull'analisi diffografica, quale nuovo mezzo di studio dell'eucollodità del plasma. Il metodo applicato all'indagine clinica sembrò ricco di promesse, in quanto alle alterazioni ematiche causate dalle diverse malattie, avrebbe dovuto corrispondere un diverso comportamento del diffogramma. Importanti erano anche, ai fini di un'ulteriore interpretazione del fenomeno della precipitazione periodica nel plasma, le modificazioni del quadro diffografico riscontrate dall'A. nel plasma di salassi successivi, ripetuti fino a morte, nel cane. In tali esperienze BUCHER notò che il P. L. (periodo di latenza) aumentava ed il numero degli A. (anelli) diminuiva di salasso in salasso, a partire dal 4° salasso, in guisa che spesso nel plasma gelificato dell'ultimo salasso non si verificava alcuna precipitazione zonale.

L'argomento ci sembrò degno d'interesse; perfezionata e semplificata la tecnica del diffogramma [2], COPPO ed io [3] ritenemmo opportuno indagare quale fosse la causa delle modificazioni della precipitazione periodica, prima di applicarne lo studio nel campo della patologia.

Ripetuto l'esperimento del salasso frazionato sul coniglio in condizioni pressochè analoghe a quelle tenute dal BUCHER, si osservò che il P. L. diminuiva ed il n. degli A. aumentava dal 1° al 4° salasso in media; indi si aveva un'inversione del fenomeno, tanto che negli ultimi salassi il P. L. aumentava enormemente ed il n. degli A. diminuiva notevolmente o veniva a mancare addirittura il circogramma.

Ricerchammo allora se nel salasso frazionato, ove si verificavano le imponenti modificazioni del quadro diffografico ora dette, fosse possibile individuare il fattore diretto di tali modificazioni. Le ricerche svolte in questo senso risultarono negative per quanto riguarda le proteine totali, la cloruremia, il valore ematocrito; parve che un certo rapporto esistesse fra modificazioni del diffogramma e variazioni delle sostanze osmoticamente attive del plasma, determinate a mezzo della misura del delta.

Press'a poco contemporaneamente alle nostre ricerche GAMBIGLIANI-ZOCCOLI e RESCHIA [4] prima, RESCHIA [5] poi, studiarono il comporta-

NOTA. — I più vivi ringraziamenti al Prof. M. COPPO, aiuto e docente nella Clinica, che ha consigliato e diretto il lavoro.

mento della diffogrammetria, secondo BUCHER, nelle nefropatie. Detti AA. conclusero che il diffogramma è tanto più alterato quanto più gravi sono le alterazioni della funzionalità renale; che non esiste evidente rapporto fra diffogramma e quadro protidemico del plasma e fra diffogramma e velocità di sedimentazione delle emazie; che l'analisi diffografica è in grado di mettere in evidenza alterazioni dell'eucolloidità, non rilevabili con i comuni metodi di indagine.

Anche a noi era occorso di notare che notevoli alterazioni del diffogramma si avevano in alcuni nefropazienti, mentre scarse erano in altri, così come nessuna o scarse modificazioni del quadro diffografico si avevano in molte altre malattie e nelle epatopatie in particolare (ad es. nessun rapporto fra diffogramma e reazione di Takata sul siero). Alterazioni imponenti del diffogramma, spesso con assenza del circogramma, ci era stato dato di osservare, con una certa frequenza, su sangue prelevato nelle ultime ore di vita.

Data la negatività di evidenti alterazioni diffografiche nelle più svariate malattie e la positività in alcune nefropatie e precisamente nelle nefriti croniche, gravi, iperazotemiche, era logico pensare che le modificazioni del diffogramma fossero in rapporto con alterazioni ematiche, escluse quelle a carico delle frazioni proteiche, a tali forme di nefrite collegate.

L'ipotesi più semplice era che l'urea, quale sostanza più facilmente ed abbondantemente ritenuta, determinasse le modificazioni del diffogramma. Ma, a parte il fatto che talvolta ci era accaduto di constatare alterazioni diffografiche del plasma in individui con tasso ematico di azoto ipobromitico basso, le prove *in vitro*, eseguite aggiungendo a plasma normale dosi progressive di urea fino a gr. 10 ‰, non dimostrarono alcuna variazione nell'andamento del diffogramma.

La causa del fenomeno andava perciò ricercata in altri fattori. Era essa causa dovuta alle altre sostanze rappresentanti l'ultima tappa del metabolismo azotato (ac. urico)? oppure a sostanze formantisi nel metabolismo intermedio dei protidi (aminoacidi, polipeptidi, creatina e creatinina)? o alla ritenzione di corpi aromatici? erano le alterazioni del diffogramma legate alle variazioni del tasso ematico dei componenti minerali? od infine le notevoli modificazioni del fenomeno di diffusione erano dovute alla rottura dell'equilibrio acido basico, così di frequente alterato in senso acidotico nell'insufficienza renale grave e negli stati comatosi in genere?

Dirò subito che il diffogramma non viene modificato da alterazioni della reazione del plasma. Il quadro diffografico di un plasma normale al quale era stato aggiunto il 20 % di una soluzione N/100 di HCl era

identico a quello dello stesso plasma diluito col 20 % di acqua distillata neutra.

Il contenuto minerale è certamente in grado di apportare notevoli modificazioni del diffogramma, come è stato dimostrato dalle ricerche di COPPO e mie, aggiungendo al plasma quantità minime di cloruro di sodio (variabili da 0.10 a 0.50 gr. ‰) e dosando la cloruremia nel sangue totale e nel plasma di salassi successivi; come era presumibile dal constatato parallelismo fra modificazioni del diffogramma e comportamento del Δ del plasma, e come sembra confermato dal comportamento del potassio, che aumenta (mentre il Ca si manterrebbe invariato) nel plasma di salassi successivi ripetuti fino a morte, in conigli, nelle medesime condizioni sperimentali da noi tenute (BERTOLINI [6]). Tuttavia dal complesso delle esperienze ora citate non si poteva trarre alcuna conclusione definitiva per l'esistenza di un parallelismo fra diffogramma e componenti minerali del plasma. Non ricercammo le modificazioni quantitative dei corpi aromatici e delle sostanze derivanti dal metabolismo intermedio delle proteine (aminoacidi, polipeptidi, creatina e creatinina), sembrandoci probabile già a priori, in base al comportamento delle frazioni proteiche nel salasso frazionato (BUCHER [1], COPPO e BOSCARDI [3], RESCHIA [5]), che tali sostanze fossero fuori causa nel determinare il quadro diffografico del plasma.

Fermammo perciò la nostra attenzione sull'ac. urico.

Le nostre ricerche furono coronate da successo: ci fu possibile dimostrare l'esistenza di un evidente parallelismo fra contenuto del plasma in ac. urico e quadro diffografico; quanto più alta era l'uricoemia tanto più modificato era il diffogramma, aliungandosi il P. L. e diminuendo il numero degli A. Nei casi in cui l'uricoemia era molto alta (8-10 mgr. %) non compariva alcun anello.

La documentazione di queste conclusioni posa su tre ordini di fatto:

1. - riscontrammo modificazioni del diffogramma in soggetti affetti da nefropatie, aventi un'alta uricoemia;
2. - l'ac. urico aggiunto al plasma modifica l'andamento della reazione diffografica;
3. - dosando l'uricoemia nel sangue prelevato in salassi successivi, nel coniglio, nelle condizioni sperimentali già citate, si trova in un primo tempo una diminuzione dell'uricoemia ed in secondo tempo, a partire dal 4°-5° salasso, un aumento del contenuto in ac. urico.

La curva del tasso uricemico nei salassi frazionati è pressochè sovrapponibile all'andamento del diffogramma: in ambo i casi, al 4° sa-

lasso in media esiste un punto critico in cui i valori cambiano di segno. La quantità di ac. urico è direttamente proporzionale al P. L., inversamente proporzionale al n. degli A., il lieve sfasamento fra contenuto in ac. urico nel plasma e quadro diffografico, che talvolta si nota, va ricercato nell'intervento di altri fattori, modificanti l'andamento del fenomeno di diffusione, e più specificamente nel contenuto minerale.

Non intendo ora fermarmi ad analizzare le cause particolari concorrenti nel modificare il diffogramma in sè, come reazione chimico-fisica, ma a me sembra valga la pena di fare qualche considerazione sull'influenza esercitata dall'ac. urico sulle proprietà fisico-chimiche, rispettivamente sull'eucolloidità del plasma.

Che detta influenza esista è dimostrato in modo più che evidente dal fatto che l'acido urico di per sè è capace di apportare così notevoli modificazioni su di un fenomeno che rimane invariato col variare quantitativo e qualitativo di tante altre importantissime sostanze, costituenti la parte proteica del plasma e col variare della reazione del plasma stesso.

E' noto che l'ac. urico esplica un'azione particolare sui fenomeni di permeabilità e di diffusione. RONDONI [7] considera l'ac. urico co-fattore di determinate reazioni flogistiche in particolari condizioni organiche (gota); le ricerche di CHINI [8] hanno dimostrato l'importanza dell'ac. urico nel facilitare i fenomeni di permeabilità delle gelatine e delle membrane e di diffusione, attraverso di esse, di soluzioni e di sospensioni colloidali altamente disperse, e gli studi di CHINI [9], [10] attribuiscono a questa azione permeabilizzante la possibilità di fare diffondere entro i tessuti sostanze eterogenee e quindi di favorire attivamente processi localizzati di flogosi a tipo iperergico.

MUSSAFIA [11], studiando la rapidità di diffusione e di riassorbimento di colori colloidali nella cute, ha notato che l'acido urico, in determinate concentrazioni, può favorire i processi di permeabilità e di diffusione attraverso i tessuti.

Il comportamento della precipitazione periodica nel plasma è una brillante controprova *in vitro* dell'influenza dell'ac. urico sui processi di diffusione. La sua presenza nel plasma in quantità abnormi, quali si riscontrano nel caso da noi preso in considerazione, di grave insufficienza renale, è capace di determinare una rottura dell'eucolloidità dimostrata dalla modificazione del quadro diffografico.

Quale il meccanismo d'azione dell'ac. urico per indurre così importanti squilibri nel complesso plasmatico, rilevabili per mezzo dell'analisi diffografica? E' difficile interpretare l'intima essenza del fenomeno, che si ricollega all'ancora insoluto problema della precipitazione periodica.

Le teorie che tendono a spiegare le modificazioni del diffogramma si appoggiano sull'ipotesi che due siano i fattori principali che determinano l'andamento della diffusione in un gel. Nel caso del gel di plasma, il primo fattore è rappresentato dal mezzo solvente, costituito da un reticolo finissimo di fibrina, nelle cui maglie sono contenuti minutissimi precipitati proteici, fungenti da centri germinativi e di cristallizzazione per i sali precipitanti; il secondo fattore è rappresentato dalle sostanze solute: sostanze minerali e prodotti di disintegrazione delle sostanze proteiche, finemente disperse.

Agisce l'ac. urico, adsorbito a causa della sua scarsa solubilità sulle maglie della fibrina o sulle molecole proteiche, come è ammesso da RONDONI [7] per spiegare l'alto contenuto in ac. urico nel sangue, in determinate condizioni, oltre il limite di saturazione, modificando il fattore primo? oppure agisce come soluto, modificando la permeabilità del mezzo in funzione di particolari proprietà permeabilizzanti e di diffusione (CHINI [8, 9, 10], MUSSAFIA [11])?

In conclusione possiamo affermare che l'ac. urico modifica l'eucolloidità del plasma e che tali modificazioni possono essere messe in evidenza per mezzo dell'analisi diffografica. In qual modo d'ac. urico espliciti la sua azione sulle proprietà chimico-fisiche del plasma e quindi del gel di plasma non può ancora essere detto.

RIASSUNTO. — L'A. ricerca la causa delle modificazioni della precipitazione periodica nel gel di plasma nelle nefriti gravi iperazotemiche.

In base alle indagini cliniche e sperimentali conclude che esiste uno stretto rapporto fra variazioni dell'uricoemia e modificazioni del diffogramma, e mette in evidenza l'importanza che l'acido urico riveste nel modificare l'eucolloidità del plasma.

BIBLIOGRAFIA

- [1] BUCHER R., *Die Diffusionsanalyse am Blutplasmagel*, Ed. Benno Schwabe, Basilea, 1937.
 - [2] BOSCARDI F., « *Diagn. Tecn. Labor.* », II, 22, 1940.
 - [3] COPPO M. e BOSCARDI F., « *Lo Sperimentale* », vol. 95, fasc. IX.
 - [4] GAMBIGLIANI-ZOCCOLI e RESCHIA C., « *Arch. Sc. Med.* », 72, 2, 1940.
 - [5] RESCHIA C., « *Arch. Sc. Med.* », 74, 2, 1942.
 - [6] BERTOLINI A., *Ricerche in corso nella Clinica*.
 - [7] RONDONI, *Biochimica*, Ed. U.T.E.T., Torino, 1942.
 - [8] CHINI V., « *Journal of exp. med.* », 54, 197, 1931.
 - [9] — « *Boll. R. Acc. Med. di Roma* », 58, 27, 1932.
 - [10] — « *Rass. Clin. Scient.* », I.B.I., 10, 109, 1932.
 - [11] MUSSAFIA A., « *Pathologica* », 28, 542, 1936.
-

331012

