

BIBLIOTECA
LANCISIANA



ARCHIVIO

PER LE

SCIENZE MEDICHE

PUBBLICATO DA

G. BIZZOZERO (Torino) — C. BOZZOLO (Torino) — P. FOÀ (Torino)
C. GIACOMINI (Torino) — C. GOLGI (Pavia) — L. GRIFFINI (Modena)
N. MANFREDI (Pisa) — E. MARCHIAFAVA (Roma) — A. MOSSO (Torino)
L. PAGLIANI (Torino) — E. PERRONCITO (Torino) — G. SALVIOLI (Genova)
E. SERTOLI (Milano) — C. TARUFFI (Bologna) — G. TIZZONI (Bologna)

E DIRETTO DA

G. BIZZOZERO

Estratto



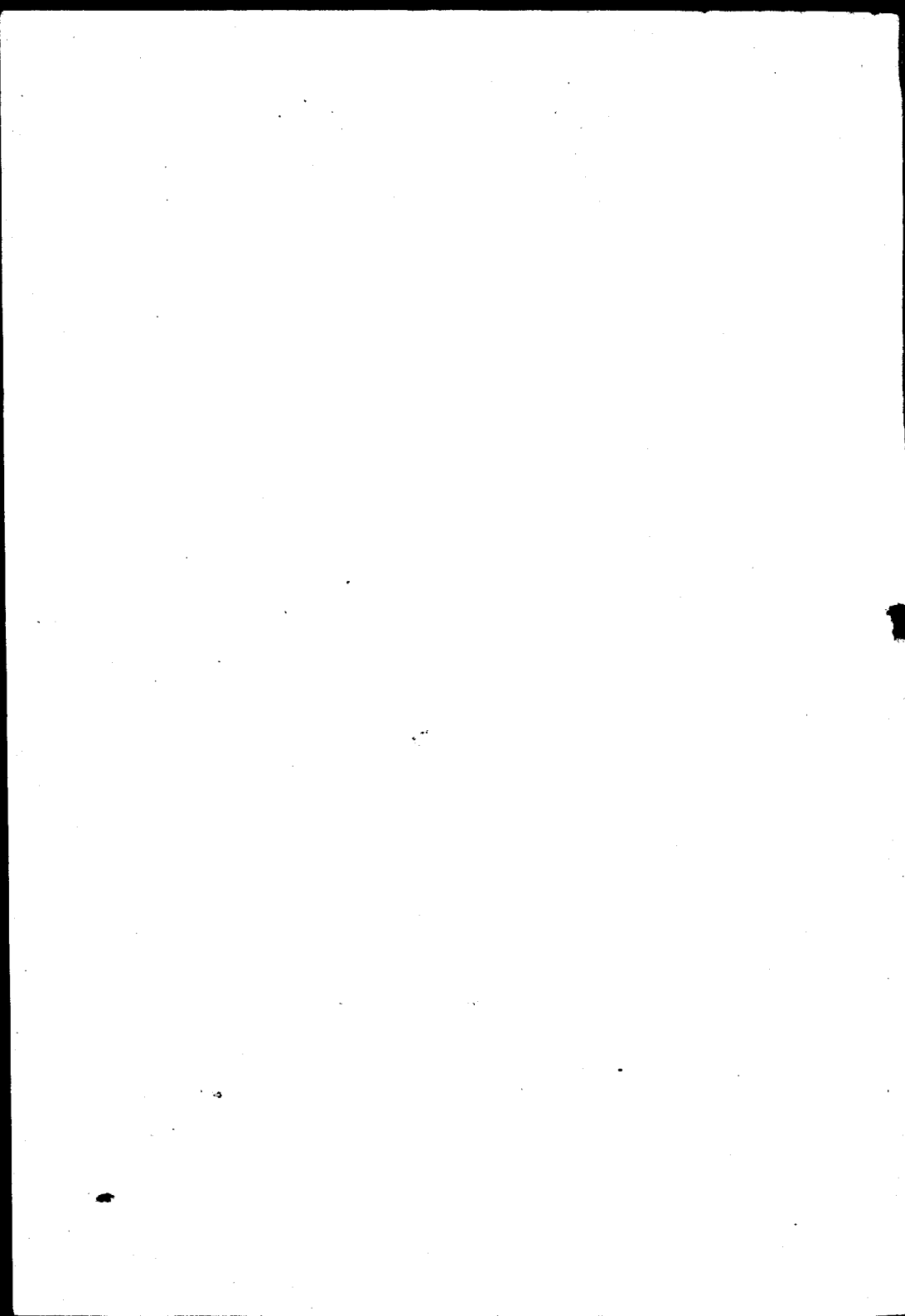
TORINO

ERMANNO LOESCHER

FIRENZE
Via Tornabuoni, 20.

ROMA
Via del Corso, 307.

1886



Clinica Medica Generale di Torino diretta dal Prof. Bozzolo.

SULLA PRESENZA DI ALCUNI FERMENTI DIGESTIVI

NELLA

URINA UMANA NORMALE E PATOLOGICA

RICERCHE

DEI SIGNORI

Professor **G. MYA** e **S. BELFANTI**

Assistente

Laureando Medico



I.

Brücke (1) nel 1861 segnalava nell'urina umana la presenza di tracce minime di pepsina. Qualche anno dopo Béchamp (2) vi rintracciava mediante precipitazione con alcool a 90° un fermento diastatico, che denominava nefrozimasi. Grützner (3) da una serie di ricerche più recenti conchiudeva che l'urina umana normale contiene non solo la pepsina in quantità discretamente rilevante, ma anche la tripsina, un fermento saccarificante ed il fermento del caglio. Sahli (4), dietro consiglio dell'ultimo autore citato, studiava le variazioni fisiologiche del contenuto in tripsina e pepsina dell'urina

(1) *Sitzungsberichte der Wien. Acad. d. Wiss.*, Bd. 43, s. 602.

(2) Béchamp, « *Comptes rendus*, » LX, p. 445. — È da notarsi che Cohnheim (*Virchow's Archiv*, Bd. XXVIII, p. 241), due anni prima, aveva segnalato nell'urina umana un fermento diastatico.

(3) Grützner, *Breslauer ärztl-Zeitschr.*, 1882, n. 17.

(4) Sahli, « *Ueber das Vorkommen von Pepsin und Trypsin im normalen menschlichen Harn* ». (*Pflüger's Archiv*, Band XXXVI, S. 209, 1885).



umana normale e deduceva l'importante corollario, che le quantità, in cui questi fermenti si trovano nell'urina, sono in intima relazione coi periodi di attività e riposo della digestione gastrica ed intestinale, per modo che vi scarseggiano dopo i pasti e raggiungono il loro maximum qualche ora prima di questi. Leo (1) in recentissime ricerche, seguendo il metodo adottato da Sahli, conferma le conclusioni di questo autore, per quanto concerne la presenza della pepsina, e, spingendosi a deduzioni di clinica importanza, annunzia la sua forte diminuzione e in taluni casi la mancanza nell'urina di individui affetti da ileo-tifo e da carcinoma dello stomaco; annulla per contro le deduzioni di Sahli per quanto concerne la presenza della tripsina.

Dopo la pubblicazione della nostra prima Comunicazione avvenuta nello scorcio dello scorso anno, abbiamo preso conoscenza di un nuovo lavoro sullo stesso argomento. Il Gehrig (2), che ne è l'autore, conferma Sahli tanto per la presenza della pepsina che della tripsina; segue il metodo di ricerca del Sahli; estende le indagini all'urina degli animali, e si occupa inoltre delle variazioni fisiologiche del fermento diastatico e del solfocianuro di potassio nelle urine. Discorda alquanto da Sahli nella spiegazione dei fatti; critica le esperienze e le deduzioni di Leo.

Essendoci parse queste ricerche di una certa importanza per il vantaggio, che ne potrebbe addivenire alla diagnostica delle alterazioni delle funzioni digerenti, ci siamo accinti ad una serie di indagini destinate anzitutto a rischiarare alcuni dubbi lasciatici dalla lettura delle monografie di Sahli e di Leo, secondariamente a studiarne l'applicabilità alla patologia della digestione.

Questa nostra pubblicazione è destinata a comunicare quanto finora ci venne fatto di rintracciare in quest'ordine di fatti.

(1) Leo « Ueber das Schicksal des Pepsins und Trypsins im Organismus ». (*Pflüger's Archiv*, Bd. XXXVII, S. 223, 1885).

(2) F. Gehrig, « Ueber Fermente im Harn. » (*Pflüger's Archiv*, Bd. XXXVIII, S. 35, 1885).

II.

Per quanto concerne il metodo di ricerca, noi abbiamo creduto di allontanarci da quello seguito da Sahli, non parendoci che esso presentasse il rigore sufficiente per le conclusioni a cui noi miravamo. Per la titolazione approssimativa della pepsina nell'urina umana quest'autore, valendosi di una scoperta di V. Wittich, già utilizzata da Grützner per ricerche analoghe, immerge un pezzetto di fibrina di bue accuratamente lavata, per rimuoverne i globuli, in una determinata quantità di urina. La fibrina assorbe avidamente la pepsina eventualmente in essa esistente, e se ne carica in ragione della quantità in cui vi si trova: dopo qualche ora il pezzetto di fibrina viene estratto dall'urina, lavato un paio di volte con acqua distillata, nell'intento di rimuoverne l'urina aderente, che coi suoi sali potrebbe disturbare il rigonfiamento necessario per la digestione (1); quindi immerso in una provetta contenente una certa quantità di una soluzione di acido idroclorico all'uno per mille. La provetta si mette quindi in un bagnomaria, la cui temperatura si mantiene fra 37° e 40° e si osserva la fibrina. Questa dopo un lasso di tempo variabile si discioglie completamente, lasciando opalescente il liquido in cui era contenuta. Sahli deduce la ricchezza in pepsina dell'urina analizzata dal tempo impiegato dal pezzetto di fibrina a disciogliersi nella soluzione idroclorica alla temperatura dell'incubazione.

Il metodo esposto, se presenta il vantaggio della semplicità, non va esente da qualche causa di errore. Il misurare la ricchezza di un liquido in pepsina dal tempo, che essa

(1) Noi abbiamo verificato che una soluzione di fosfati, solfati, cloruri ed urea nelle proporzioni medie, in cui si trovano nell'urina aggiunta ad una soluzione di HCl al 1/100 di acqua contenente un pezzetto di fibrina, non impedisce a questa di rigonfiarsi meno di quanto farebbe se fosse nella sola soluzione idroclorica. Noi crediamo quindi che l'urina impedisca alla fibrina di rigonfiarsi per qualche altra ragione, che sinora ci sfugge.

impiega a consumare una determinata quantità di fibrina è poco esatto, ed i trattatisti — Wurtz (1), Maly (2), Heidenhain (3) — sono concordi nel dire che al di là di una certa proporzione del fermento, l'azione di questo diventa stazionaria e non è più proporzionale alla sua quantità; che quindi la proporzionalità della rapidità digestiva alla quantità di pepsina non esiste che per liquidi contenenti pepsina in quantità poco ragguardevoli. In secondo luogo l'azione della soluzione cloridrica può essere sufficiente ad una data temperatura per determinare la digestione di una certa quantità di fibrina. In terzo luogo non basta, secondo noi, osservare la dissoluzione della fibrina: è necessario studiare i prodotti della digestione nei singoli casi, confrontandoli con quelli, che ci sono dati dalla digestione nella semplice soluzione idroclorica. Sahli non si dissimula la seconda causa di errore, e ricorre ad un metodo ingegnoso per dimostrare che in ogni caso si tratta veramente di una digestione dovuta ad un fermento e non di una semplice dissoluzione della fibrina. Egli fa bollire in ogni caso una parte dell'urina, su cui vuole sperimentare; e dimostra che la scomparsa totale della fibrina non si effettua per quella, che rimase immersa per qualche ora nell'urina bollita onde distruggervi la pepsina, che si decompone ad alta temperatura, mentre ha luogo per il pezzetto di fibrina, che stette nell'urina non modificata. Se però la seconda obiezione resta tolta di mezzo da questo artificio, restano sempre il primo ed il terzo dubbio, che non vengono rimossi dall'autore. Un'altra inesattezza di metodo consiste nel fatto che l'A. non formula mai in peso, anche nelle esperienze estesamente riferite con tutti i dettagli, la quantità di fibrina adoperata: per cui riuscirebbe difficile a chi volesse seguirne scrupolosamente le indicazioni, il mettersi nelle sue identiche condizioni.

(1) Wurtz, « *Traité de chimie biologique*, » 1885, pag. 188.

(2) Maly, « *Chemie der Verdauungssäfte* ». (*Hermann's Handbuch der Physiologie*, Bd. V, S. 75.)

(3) Heidenhain, « *Physiologie der Absonderungsvorgänge* ». (in *Hermann's Handbuch der Physiologie*. Bd. V, pag. 125).

Per ovviare alle descritte inesattezze, noi abbiamo adottato solo in una parte il metodo di Sahli, attenendoci per un'altra ad altri metodi più scrupolosi, se non esatti in senso assoluto, per quanto più lunghi e complicati. Questo metodo è quello seguito da Bidder e Schmidt (1) per determinare le proporzioni di pepsina in varii liquidi e sostanze da essi analizzati. Si pesano quantità uguali di fibrina fresca di bue accuratamente lavata: in generale due grammi. Di queste porzioni perfettamente uguali in peso una viene seccata dapprima a bagnomaria, quindi in una stufa a 110°-120°; poscia finamente polverizzata e pesata. Noi ottenemmo in tutte le nostre numerose ricerche per 2 gr. di fibrina secca una media di gr. 0.490 di residuo secco.

Le altre porzioni di fibrina uguali in peso a quella seccata vengono immerse in varii recipienti contenenti in genere 250 grammi delle varie urine emesse di recente, escluse quelle, che offrono il principio della fermentazione acida. Dopo tre ore di soggiorno nell'urina i pezzetti di fibrina vengono estratti, lavati con cura, e quindi immersi in provette contenenti 50 cc. di soluzione di acido cloridrico all'uno per mille: una poi delle porzioni di fibrina viene immersa semplicemente nella soluzione cloridrica senza passare per l'urina, onde vederne la perdita in peso per effetto della semplice digestione in questa soluzione. Le provette vengono quindi messe in una stufa d'Arsonval mantenuta alla temperatura costante di 38°-39° C. Dopo 24 ore, essendosi constatato che tutti i liquidi danno tuttora reazione acida, che non esalano traccia di cattivo odore, e che al microscopio non presentano ancora i batterii della putrefazione, essi vengono filtrati nel vuoto (precauzione necessaria, perchè, in caso contrario, essendo lungo il tempo di filtrazione, ha luogo la putrefazione) attraverso a filtri tarati. I filtri coi residui della fibrina indigerita vengono seccati, come prima la fibrina, a 110°; quindi pesati.

(1) Maly, « Chemie der Verdauungssäfte, » (in *Hermann's Handbuch der Physiologie*, S. 75).

Con questo modo noi abbiamo esattamente la perdita fatta dai vari pezzi di fibrina per effetto della digestione, espressa in grammi di fibrina secca; e queste perdite, tenendo calcolo altresì di quella, che i due grammi di fibrina hanno subita per effetto della permanenza durante 24 ore nella sola soluzione cloridrica, misurano la ricchezza in pepsina delle varie urine in cui s'immersero le quantità uguali di fibrina secca; poichè è naturale che questa perdita sarà maggiore per quei pezzi di fibrina che furono immersi in urine contenenti maggior quantità di pepsina, essendo proporzionale, secondo Grützner e Sahli la quantità di pepsina assorbita dalla fibrina alla ricchezza in pepsina del liquido in cui la fibrina rimase immersa.

Ma ciò fatto, pur essendoci accertati, che la fibrina, la quale venne immersa nell'urina ha subita una certa perdita, potremo noi essere sicuri, che siasi compiuta in ogni caso una digestione pepsinica nello stretto senso della parola? È bensì vero, che Grützner trovò fra i prodotti della digestione della fibrina immersa nell'urina normale del peptone; ma potrebbe darsi il caso, che trattandosi di urine fornite da uomini ammalati, la fibrina si disciogliesse, sintonificandosi, se ci è permessa l'espressione, semplicemente, senza passare ai termini successivi della peptonificazione. — Gli autori (1) vanno d'accordo nel dire, che, per valutare al suo giusto valore il contenuto in pepsina di un liquido, non è sufficiente osservare la scomparsa della fibrina in esso immersa; ma è necessario studiare i liquidi forniti dalla digestione. Noi fummo dunque d'avviso, che, per procedere in modo rigoroso, era necessario accoppiare in ogni caso l'analisi chimica del liquido al calcolo della perdita in peso della fibrina messa a digerire.

Noi cominciammo dall'osservare i prodotti della digestione della fibrina immersa semplicemente in 50 gr. di soluzione di acido cloridrico all'uno per mille durante 24 ore alla temperatura di 38° C. (2). Essa si rigonfia notevolmente sino ad

(1) Wurtz, loco citato.

(2) Per quanto numerose siano le osservazioni intorno all'azione delle

assorbire quasi tutta l'acqua contenuta nella provetta. Il prodotto della filtrazione della massa gelatinosa è opalescente; neutralizzando con soluzione di fosfato di soda si ha un abbondante precipitato fioccoso bianco dato dall'albumina acida, sintonina, parapeptone, che dir si voglia, secondo le denominazioni date dai vari autori all'albuminato, che si produce per effetto della permanenza di varie sostanze albuminose nella soluzione acida. Se ora si filtra, si trova che il filtrato dà ancora uno scarsissimo intorbidamento fioccoso coll'acido acetico e la soluzione di ferrocianuro potassico; s'intorbida leggermente a freddo con HNO_3 e l'intorbidamento così ottenuto si ridiscoglie completamente alla temperatura dell'ebollizione; reazione, che dagli autori viene riferita al prodotto del primo stadio della peptonificazione, a quella sostanza cioè, che Meissner denominò *peptone a*, Schmidt-Mülheim *propeptone* e Kühne *emialbuminosi*. Se ora si precipitano queste tracce debolissime di propeptone, come meglio amiamo denominarlo, con acido acetico e ferrocianuro di potassio, si filtra; si tratta il filtrato con una soluzione concentrata di solfato di rame per precipitare l'eccesso del ferrocianuro; si filtra nuovamente: si tratta il filtrato con idrogeno solforato per precipitare l'eccesso del rame; si filtra ancora e si tratta il filtrato con la reazione del biureto o qualcun'altra di quelle reazioni, che svelano la presenza del peptone nei liquidi, da cui vennero escluse le altre sostanze albuminose, si trova che essa manca (1). Ciò significa, che la semplice immersione di

soluzioni di HCl sulla fibrina, noi abbiamo creduto opportuno il cominciare le nostre osservazioni dal notare le modificazioni indotte dalla soluzione idroclorica sulla fibrina nelle precise condizioni, in cui noi ci mettevamo per le successive ricerche, onde potere in ogni caso metterle a riscontro con quanto si otteneva per i pezzi di fibrina immersi nelle varie urine.

(1) Questo metodo d'isolamento dei peptoni è quello seguito da Max Wassermann, « De la peptonurie et sur quelques points de la physiologie des peptones » Thèse de Paris 1885. Non abbiamo adoperato la dialisi, perchè essendo troppo lungo il tempo necessario per la separazione dei peptoni, poteva intervenire la putrefazione, che a noi premeva

due grammi di fibrina in grammi cinquanta della soluzione di HCl al 1^o/₁₀₀ durante 24 ore alla temperatura di 38° non è capace di darci una completa peptonificazione, di produrre la trasformazione della fibrina nel peptone vero, nel peptone dializzabile, che non reagisce più coll'acido acetico e il ferrocianuro di potassio, non coagula più nè a caldo nè a freddo coll'acido nitrico; ma s'intorbida ancora coll'alcool assoluto, dà una colorazione violetta colla potassa e le soluzioni attenuate di solfato di rame, ecc. ecc. Dunque, per dirla in breve, per effetto della sola digestione in acido idroclorico nelle condizioni in cui noi ci mettemmo, abbiamo un'abbondante sintonificazione ed appena accennato il primo termine della digestione peptica sotto forma di tracce tenuissime di propeptone; ma il vero peptone, il peptone γ di Meissner, l'emipeptone di Kühne non si produce. Aggiungiamo che due grammi di fibrina fresca uguali in peso a gr. 0,490 di fibrina seccata perdono per effetto della permanenza nella soluzione cloridrica una quantità in peso uguale a gr. 0,125 di fibrina secca.

La fibrina invece, che venne immersa in 250 grammi di urina di un individuo sano e vi rimase per due ore, prima di passare a digerire nella soluzione idroclorica, si gonfia pochissimo, tanto se venne lavata con acqua distillata, quanto nel caso contrario; e poco a poco si discioglie, rompendosi prima in piccoli pezzetti. Due grammi di fibrina, quantità da noi usata in ogni ricerca, non si disciogliono, in 24 ore di digestione, completamente, ma lasciano un residuo discreto. La perdita fatta dai due grammi ragguagliata a fibrina secca venne da noi trovata in una ricerca uguale a gr. 0,325. Il liquido acido, in cui si fece la digestione, è molto opalescente e non contiene traccia di batterii. Neutralizzato con fosfato di soda, dà un abbondante precipitato. Il liquido, filtrato dopo la neutralizzazione, dà un abbondante precipitato a freddo coll'acido nitrico che si ridiscioglie completamente alla tem-

di evitare. Oltre a questo metodo, abbiamo altresì seguito per alcune ricerche quello da Hofmeister proposto per la ricerca dei peptoni nelle urine.

peratura dell'ebollizione; precipita pure abbondantemente coll'acido acetico e la soluzione di ferrocianuro di potassio. Liberando ancora il liquido di questo albuminato col metodo suddescritto, si trova che mentre esso più non reagisce coi suaccennati reagenti, dà la reazione del biureto, s'intorbida con alcool assoluto e coll'acido fosfowolframico. Noi abbiamo dunque in questo caso la produzione di tutti e tre i termini della digestione peptica, cioè 1° Sintonina o parapeptone; 2° Propeptone; 3° Peptone vero. Dunque la fibrina, che stette nell'urina, dovette ivi caricarsi di un fermento analogo nella sua azione alla pepsina, per modo che la sua digestione poté spingersi più oltre, che non colla semplice permanenza nella soluzione cloridrica all'uno per mille. Noi possiamo dunque confermare colle nostre ricerche quanto trovò Grützner, che cioè l'urina normale contiene in quantità discreta un fermento capace di peptonificare in soluzione acida. Non possiamo però nasconderci che l'azione spiegata da questo fermento si limita alla produzione di un'abbondante quantità di propeptone, mentre il peptone non si trova che in tenuissima quantità.

Quanto alle deduzioni cliniche, è ovvio che il metodo da noi adottato esige un tempo molto lungo per accumulare un materiale sufficiente a concludere. Però, mentre riserviamo ad un altro lavoro le conclusioni definitive, possiamo in base alle osservazioni sinora praticate considerare come inesatta l'asserzione di Leo (1), che possa mancare il fermento analogo per la sua azione alla pepsina nelle urine degli affetti da ileo-tifo perchè in tutti i casi sinora da noi studiati (e fra essi alcuni molto gravi) sempre lo ritrovammo. Trovammo però in genere scarsa la quantità del fermento peptonificante in ambiente acido nell'urina dei febbricitanti, qualunque sia la causa, che determina la febbre. Nell'urina di alcuni ammalati affetti da morbo cronico di Bright abbiamo sempre riscontrato il fermento in quantità però inferiore a quella in cui si trova nell'urina normale.

(1) Leo, loco citato, S. 227

III.

Ma noi vedemmo che Grützner, confermato da Sahli, venne nella convinzione esistere nell'urina umana accanto alla pepsina anche la tripsina. Sahli adoperò il metodo seguente per valutarne approssimativamente la quantità nell'urina. Prende due porzioni uguali di urina fresca (5 cmc); tratta l'una a bagno-maria in acqua bollente per 5 minuti primi nello scopo di rendere inattivo il fermento peptonificante del succo pancreatico; adopera l'altra senza modificazione. Aggiunge poscia ad entrambe le porzioni 10 cmc di una soluzione di soda al 1%, ottenendo per tal modo una miscela di $\frac{1}{3}$ di urina e $\frac{2}{3}$ di soluzione alcalina. Immerge in questi liquidi la fibrina lavata ed osserva la digestione alla temperatura di 40°, calcolando il tempo che impiega il pezzetto di fibrina a disciogliersi nel liquido contenente l'urina non sottomessa all'ebollizione. Leo (1), criticando questo metodo, osserva a ragione che in liquidi alcalini contenenti, come l'urina, componenti organici, tanto più, se mantenuti alla temperatura del corpo umano, interviene rapidamente la putrefazione, sotto la cui influenza si produce eziandio la peptonificazione della fibrina. Ora sarà molto difficile in queste condizioni il decidere, se alla putrefazione od all'azione della tripsina contenuta eventualmente nell'urina si debba ascrivere la digestione della fibrina, e quindi impossibile in tali condizioni dedurre conseguenze relative alla ricchezza in tripsina dell'urina analizzata. Egli, seguendo quindi il precetto di Kühne, aggiunge ai liquidi digerenti alcune gocce di una soluzione alcoolica di timolo per sopprimere l'influenza della putrefazione. Con questa precauzione egli non osservò mai la benchè menoma dissoluzione dei pezzetti di fibrina, e conclude quindi negativamente riguardo alla presenza della tripsina nell'urina dell'uomo.

(1) Leo, loco citato, S. 226.

Noi abbiamo praticato osservazioni anche riguardo ai fermenti peptonificanti in soluzione alcalina, e, mettendoci in condizioni alquanto diverse da quelle dei precedenti osservatori, abbiamo ottenuto risultati affermativi. Quantunque Sahli affermi, che la fibrina immersa in liquidi contenenti tripsina non se ne carica, o, per lo meno, non la trattiene così tenacemente, come fa per la pepsina, abbiamo, a titolo di prova, voluto seguire per la ricerca del fermento suddetto il metodo da Grützner proposto per la pepsina. Immergevamo adunque una quantità pesata di fibrina fresca nell'urina, dopo un'immersione per un tempo variabile da 2 a 4-5 ore la si estraeva, e, invece di lavarla con acqua, ciò che, secondo le nostre osservazioni, è contrario alla successiva digestione, la asciugavamo semplicemente, premendola leggermente fra due pezzette di carta bibula. Quindi veniva immersa in 50 cc di una soluzione satura di borato di soda, liquido, che soddisfaceva alle due indicazioni dell'ambiente alcalino e dell'ambiente contrario alla putrefazione per le sue proprietà antisettiche. Abbiamo anche noi abbandonato l'immersione nella soluzione di soda, di fosfato sodico, ecc. ecc., perchè constatammo essere esse favorevolissime alla putrefazione, che vi si svolge nelle nostre condizioni in capo a poche ore; come pure abbandonammo l'antisepsi colle soluzioni saliciliche e timiche, perchè ne verificammo l'azione disturbatrice sulla digestione, che noi ci proponevamo di eseguire. Anche l'acido borico ed il borace sono messi nella categoria delle sostanze contrarie all'azione degli enzimi: ma, come osserva Adolfo Mayer (1), pare che la sua azione antifermentativa debba ascriversi essenzialmente alla sua reazione alcalina; essa quindi non nuocerebbe ai fermenti che operano in soluzione alcalina: si sa inoltre, secondo Walberg (2), che una soluzione di borace al 1% impedisce appena di $\frac{1}{2}$, circa l'azione dei fermenti digestivi, e che esso non è punto contrario all'azione del fermento del caglio. Ba-

(1) A. Mayer « Die Lehre von den chemischen Fermenten ».

(2) Walberg, citato da A. Mayer, vedi sopra.

sandoci su questi fatti, abbiamo adottato questo liquido e non avemmo che a lodarci della nostra scelta. Di fatti il pezzetto di fibrina, dopo la permanenza nell'urina, immerso nella soluzione di borace e ivi mantenuto per 24 ore alla T. di 38° C, vi si scioglie perfettamente senza prima rigonfiarsi; ma spezzettandosi finamente; il liquido, si fa molto opalescente: però non dà indizio alcuno di putrefazione, mantenendosi esso perfettamente inodoro e non offrendo al microscopio la presenza di microrganismi della putrefazione, anche se lasciato successivamente per qualche settimana alla temperatura del laboratorio. Ma ci si poteva obiettare non trattarsi in questo caso di una vera digestione enzimatica: ma di una semplice soluzione della fibrina nella soluzione del borace, sapendosi dalle ricerche di Denis (1), che le soluzioni di alcuni sali neutri, come il nitrato di potassio, il cloruro sodico, il solfato di sodio, ecc., hanno il potere di far rigonfiare la fibrina in esse immersa per un certo tempo alla T. di 40° C, e di discioglierne una parte più o meno considerevole. Per metterci al riparo da questa obiezione noi abbiamo sperimentato nei seguenti modi:

1° Abbiamo immerso la fibrina nella soluzione satura di borace, senza prima metterla nell'urina e abbiamo mantenuto il tutto a 40°. Non abbiamo mai osservato la dissoluzione della fibrina, anche lasciando stare la provetta per oltre 24 ore nella stufa incubatrice. Il liquido si mantenne perfettamente limpido.

2° La fibrina, stata prima nelle urine, veniva immersa nella soluzione di borace e mantenuta alla temperatura del laboratorio (8°-17° C). Non si notò neppure in questo caso dissoluzione.

3° La fibrina, stata prima nell'urina, veniva accuratamente lavata con acqua, prima d'immergerla nella soluzione di borace. La digestione in questo caso era molto meno completa, che non trascurando il lavaggio.

4° L'urina veniva fatta bollire prima di immergerci la fibrina. In tal caso anche la permanenza lunga nella soluzione di borace non produceva alcuna modificazione nella fibrina.

(1) Citato dal Wurtz. Opera citata, pag. 95.

Da tutte queste contro osservazioni ci risulta adunque contrariamente alle asserzioni di Leo, che realmente la fibrina estrae dall'urina un fermento speciale, che possiede la proprietà di digerire la stessa in soluzione alcalina e che le soluzioni di borato di soda si prestano molto bene a fornire l'ambiente opportuno per questa digestione.

Abbiamo anche in questo caso studiato gli albuminati proiettati nella soluzione salina per effetto di questa digestione e vi abbiamo anzitutto riscontrato una sostanza albuminosa, che offre le seguenti proprietà:

- 1° Precipita a freddo coll'acido acetico;
- 2° Neutralizzando la soluzione alcalina di borato di soda non si precipita;
- 3° Precipita totalmente, saturando il liquido con solfato di magnesia a 30°;
- 4° Coagula verso 70° in soluzione leggermente acida;
- 5° Precipita coll'acido acetico e la soluzione di ferrocianuro di potassio.

Questa sostanza offre evidentemente la proprietà di una globulina, e noi ricordiamo a questo riguardo che Kühne (1) avrebbe riscontrato, che la globulina è appunto il primo termine della digestione tripsinica a quella guisa che la sintonina è il primo termine della digestione pepsinica. Eliminando la globulina e le altre eventuali sostanze albuminose precipitabili coll'acido acetico ed il ferrocianuro di potassio col metodo da noi sovradescritto, si trova che il liquido contiene tracce non indifferenti di peptone. Volendo verificare se l'analogia di azione tra questo fermento esistente nell'urina e la tripsina si spingesse più oltre, abbiamo voluto assicurarci, se per avventura nei liquidi della digestione in soluzione di borace non si riscontrassero eziandio la leucina e la tirosina, che, com'è noto, sono gli ultimi termini, in cui la tripsina scinde la molecola delle sostanze albuminose, secondo le ricerche dei chimici fisiologi. Trattandosi nel nostro caso di

(1) Kühne u. Chittenden. *Zeitschrift-Biolog.* L. XIX, p. 159, 1883.

una soluzione di borato di soda, nella quale sarebbero state sciolte le due anzidette sostanze, noi abbiamo adottato per il loro isolamento il metodo da Hoppe-Seyler (1) proposto per riconoscerle nelle urine. La prima operazione, che si pratica su di esse per questa ricerca è la precipitazione coll'acetato triplombico. Ora i borati sono anch'essi precipitati da questo acetato; per cui noi abbiamo anzitutto liberato i nostri liquidi di digestione dal borace mediante precipitazione coll'acetato triplombico. Dopo filtrazione, si tratta il liquido filtrato con idrogeno solforato per togliere di mezzo il piombo eccessivo; si filtra ancora e nel filtrato, previa concentrazione, si isolano la leucina e la tirosina mediante trattamento con alcool bollente, che scioglie la leucina e lascia indisciolta la tirosina. Operando nel modo indicato, potemmo ottenere le forme cristalline caratteristiche della leucina e della tirosina; questa ultima sostanza confermammo colla reazione di Piria.

Dal complesso di questi risultati noi ci troviamo dunque indotti a concludere, che nell'urina umana si contiene accanto al fermento peptonificante la fibrina in soluzione acida, un altro fermento che peptonifica in soluzione alcalina. L'ambiente più adatto per questa digestione è formato dalle soluzioni di borace. Noi possiamo altresì concludere, che questo fermento offre una perfetta analogia, per rispetto alle modificazioni, che apporta nella molecola delle sostanze albuminose colla tripsina. Quanto alle modificazioni di questo fermento nelle singole forme morbose riserbiamo ad altro lavoro le conclusioni.

Nell'esposizione delle nostre ricerche noi abbiamo evitato di denominare rispettivamente pepsina e tripsina i fermenti, che estratti dall'urina mercè la fibrina, hanno il potere di digerirla in soluzione acida ed alcalina. Noi ci siamo astenuti da questa identificazione, perchè non ci credemmo autorizzati a concludere dalla sola analogia di azione all'identità dei

(1) Hoppe-Seyler, « *Traité d'analyse chimique appliquée à la Physiologie* » etc., pag. 396.

corpi. Non avendo sinora isolato questi fermenti, noi ci riteniamo unicamente autorizzati a concludere dalle nostre ricerche che *l'urina umana contiene dei fermenti, che agiscono analogamente alla pepsina ed alla tripsina, senz'altra aggiunta.*

IV.

Nelle prime linee di questo lavoro noi abbiamo accennato alle osservazioni di Béchamp, il quale, precipitando l'urina con tre volte il suo volume di alcool a 90°, trovò che il precipitato bianco prodottosi contiene un fermento che trasforma l'amido in zucchero. A questo fermento egli diede il nome di nefrozimasi. Leube (1) trovò che questa sostanza non è un corpo semplice; ma la miscela di due sostanze, cioè di un corpo saccarificante e di una sostanza albuminosa. Questi due corpi possono coesistere nel precipitato alcoolico dell'urina; talora invece si trova l'uno e l'altro isolato. Noi abbiamo voluto verificare se il trattamento con alcool a 90° poteva, oltre al fermento diastatico, precipitare i due fermenti da noi studiati, sapendo come tanto la pepsina, quanto la tripsina, si possono raccogliere coi precipitati alcoolici. Abbiamo dunque trattato 150 cc. di urina normale con 450 cc. di alcool a 90°: ottenemmo un precipitato bianco abbondante, composto, come risulta da un lavoro del prof. Fiori e di uno di noi (2), in massima parte, dei sali inorganici dell'urina. Filtrammo; la parte rimasta sul filtro venne ripresa con 50 cc. di acqua lievemente acidulata con qualche goccia di acido acetico, in cui si scioglieva quasi completamente. Dividemmo i 50 cc. di acqua contenente in soluzione il precipitato alcoolico dell'urina in tre porzioni pressapoco uguali. Nell'una mettemmo un po' di salda d'amido, nell'altra un pezzettino di fibrina, previa ag-

(1) Leube und Salkowski « Die Lehre vom Harn », S. 350.

(2) Fiori e Mya « Sulla natura del precipitato prodotto dell'alcool nella urina umana normale ». Comunicazione all'Accademia medica di Torino in data 10 giugno 1881.

giunta di 20 gr. di soluzione idroclorica al 1 %₀₀: nel terzo parimenti fibrina, previa aggiunta di 20 gr. di soluzione di borace. Messo il tutto nell'incubatrice a 40°, potemmo verificare che dopo 10 ore il contenuto della 1^a provetta dava la reazione del glucosio col reattivo del Trommer, che la fibrina erasi completamente disciolta nella provetta con soluzione di borace; disciolta in gran parte, ma non completamente in quella con soluzione idroclorica. Nei due ultimi liquidi abbiamo riscontrato tracce evidenti di peptone. Concludiamo adunque che i due fermenti peptonificanti si riscontrano nel precipitato alcoolico dell'urina umana, operando col metodo di Béchamp.

V.

Prima di chiudere questo resoconto delle nostre osservazioni, ci sia permesso di aggiungere alcune parole sulle modificazioni, che il riscontro di questi fermenti può apportare alla valutazione di alcuni sintomi di clinica importanza dedotti da reperti chimici particolari nell'urina. È noto dai lavori di Hofmeister (1), Maixner (2), Iaksch (3), Pacanowski (4) e in Italia di Grocco (5) nonchè di altri che per brevità omettiamo, che frequentemente in molte albuminurie da cause svariate, accanto alla siero-albumina si riscontrano tracce variabili di peptone. Si è anzi cercato di mettere la peptonuria in relazione coll'esistenza di raccolte purulente e di stabilire un nesso tra l'assorbimento dei materiali purulenti e la peptonuria.

(1) Hofmeister (*Zeitschrift f. phys. Chemie*, Bd. IV, H. 4, S. 253).

(2) Maixner (*Prager Vierteljahrsschrift. f. pr. Heilkunde*. Bd. 144, S. 75).

(3) B. V. Iaksche (*Zeitschrift für Klin. Medicin*. Bd. VI, S. 413).

(4) Pacanowski, « Ueber die Peptonurie vom klinischen Standpunkte ». Aus *Zeitsch. für klin. Med.* Bd. IX, S. 429.

(5) Grocco, « Sulla peptonuria ». (*Annali Univers. di Medicina e di Chirurgia*, 1883, Vol. 265, Fasc. 797).

Alcuni autori, il Dochmann (1), il Fenomenow (2) hanno emessa l'idea che il peptone potesse nell'urina derivare direttamente dalla siero-albumina per un'azione peptonificante spiegata da fermenti contenuti nell'urina stessa. Il Dochmann ricorse alle minime tracce di pepsina ritrovate da Brücke, come si è detto nella prima pagina di questo scritto; il Fenomenow suppose che la trasformazione della albumina nel peptone potesse essere indotta da una particolare azione fermentativa spiegata dai costituenti morfologici anormali dell'urina come il pus, il sangue, gli epiteli. Il ritrovato di Grützner e Sahli da noi confermato, che l'urina contiene questi fermenti in quantità tutt'altro che scarsa, rimette in nuova luce il supposto di Dochmann. Basterà difatti che l'urina soggiorni nella vescica per un tempo sufficientemente lungo, perchè ivi, alla temperatura propizia del corpo umano, i fermenti possano iniziare un principio di digestione della siero-albumina esistente nell'urina, dando origine così al peptone ed ai termini intermedi della peptonificazione, a seconda dei casi. Noi riuscimmo infatti a ottenere peptoni in urine albuminose di nefritici, mantenendole semplicemente per otto ore alla temperatura dell'incubazione; come pure ci venne fatto di produrre un'artificiale peptonuria in urine albuminose, facendole trattenere dal paziente in vescica per oltre sei ore. È da notarsi che in questi casi le urine, quantunque albuminose, erano ricche in fermenti, mentre in altri casi di urine albuminose, ma povere in fermenti, non ci riuscirono i tentativi fatti nel senso suaccennato.

Senza voler con questo negare in modo alcuno la provenienza diretta del peptone dal sangue, devesi, secondo noi, nelle ulteriori ricerche sulla peptonuria, tener conto di questa possibile influenza, per rendersi un conto esatto intorno alla origine di questo importante contenuto abnorme dell'urina.

(1) Dochmann, *The Medic. Rec.*, N. 526, 1880.

(2) Fenomenow, citato da Pacanowski, S. 430.



