

*Publicazione Quindicinale dal Vol. LII, N.18 bis*  
Spedizione e abbonamento postale, Gruppo 2  
30 Ottobre 1976

# BOLLETTINO DELLA SOCIETÀ ITALIANA DI BIOLOGIA SPERIMENTALE

*SOTTO L'AUSPICIO  
DEL  
CONSIGLIO NAZIONALE DELLE RICERCHE*

*Redazione: Segreteria Generale Soc. It. Biologia Sperimentale -  
S. Andrea delle Dame, 5 - 80138 Napoli*

*Amministrazione: Casa Editrice Libreria V. Idelson  
Via Alcide De Gasperi, 55 - 80138 Napoli*

L. DI BELLA, M. BUCCIARELLI, U.M. PAGNONI, G. SCALERA e M.T. ROSSI (*Istituto di Chimica Organica e Cattedra di Fisiologia Generale dell'Università di Modena*)

### **Formazione di complessi tra melatonina (mlt) e basi puriniche e pirimidiniche.**

Dopo la scoperta della serotonina nelle piastrine (BRACCO e CURTI: *EXPERIENTIA*, 1954, **10**, 71), e la dimostrazione che la sostanza non è ivi formata ma solo trasportata e assunta elettivamente, BORN, INGRAM & STAVEY (*Brit. J. Pharmacol. Chemother.*, 1958, **13**, 62) ne dimostrarono i rapporti molecolari con ATP, e BAKER, BLASCHKO & BORN (*J. Physiol.*, London, 1959, **149**, 55P) la presenza nei granuli, isolati in forma pura da DA PRADA e Coll. (*Nature*, 1967, **216**, 1315).

La formazione di tali complessi è stata studiata recentemente "in vitro" attraverso NMR, misurando la variazione dei "chemical shifts" dei protoni delle basi azotate dopo l'aggiunta di serotonina e derivati (HELENE e Coll.: *Biochemistry*, 1971), **10**, 3802; Dimicoli e Coll.: *Biochimie*, 1971, **53**, 331; Idem: *J. Am. Chem. Soc.*, 1973, **95**, 1036; WANG & LI: *J. Am. Chem. Soc.*, 1968, **90**, 5069).

La formazione di tali complessi è stata studiata "in vitro" attraverso misure di NMR e i risultati indicano che, in presenza di un eccesso di nucleotidi o nucleosidi, la serotonina può sostituire le basi azotate negli aggregati; le costanti di associazione dei complessi tra purine e derivati indolici sono dello stesso ordine di grandezza. Noi abbiamo studiato la formazione di complessi fra guanosina, adenosina, uridina e citidina da una parte e MLT dall'altra.

A causa della scarsa solubilità della MLT abbiamo operato in forte eccesso di nucleoside. Le variazioni più significative dei "chemical shifts" sono state rilevate operando in *D<sub>2</sub>O* 1N, con concentrazioni 0.25M in base azotata e 0.01M in MLT. Esse risultano di entità inferiore a quelle riportate per gli altri derivati indolici probabilmente per la minore quantità relativa in MLT.

È tuttavia da rilevare che tali variazioni sono senz'altro sufficientemente significative nell'indicare una associazione MLT - nucleoside. In particolare nel caso dell'adenosina le variazioni dei "chemical shifts" sono a campi più bassi, indicando probabilmente aggregati a legami d'idrogeno (HELENE e Coll.: *Biochim. Biophys. Acta*, 1971, **254**, 349), nel caso invece di guanosina, citidina e uridina le variazioni dei "chemical shifts" risultano verso campi più alti, potendo significare una aggregazione tipo "stacks".

G. SCALERA, L. DI BELLA, M.T. ROSSI, L. GUALANO e F. VACCARI (*Istituto di Fisiologia Umana, Cattedra di Fisiologia Generale, Università di Modena*)

### **Effetto dell'elettroforesi "in vivo" sul mielogramma di ratto.**

Nel ratto in narcosi nembutalica si sono scoperte le due epifisi del corpo dei due femori, si sono forate con fresa sferica, e nei due fori si sono introdotti elettrodi di Ag/AgCl. I due elettrodi erano distanti 21.5-25 mm con anodo prossimale-catodo distale in uno, e anodo distale-catodo prossimale nell'altro.

La corrente continua si faceva passare per 180 minuti alla tensione di 80 mV e l'intensità di circa 0.5  $\mu$ A. Tensione e corrente venivano registrate su poligrafo Sanborn mod. 150. La resistenza era di circa  $36 \times 10^4$  Ohms e poteva variare entro modesti limiti. Alla fine dell'esperimento l'animale veniva dissanguato e col midollo delle estremità prossimale e distale del femore, nonché con quello diafisario si allestivano gli strisci. I mastociti tendono a rarefarsi nella diafisi e ad addensarsi alle epifisi, verso l'anodo più che verso il catodo.

Si può avere in qualche caso una discreta significatività fra la densità all'anodo rispetto quella al catodo ( $0.10 < P < 0.05$ ). Tendono ugualmente a rarefarsi nella zona interelettrodica gli elementi della serie linfoide. Gli elementi della serie micloide invece tendono ad aumentare dal catodo verso l'anodo, per quanto può verificarsi anche l'opposto. Solo in qualche serie di vetrini la modificazione ha raggiunto una discreta significatività.

Per gli elementi della serie monocitica, plasmocitica e megacariocita non si sono mai ottenuti risultati univoci. Gli elementi della serie eritroide hanno tendenza alla rarefazione verso il catodo. Il rapporto Miel/Er in alcune serie può raggiungere valori di  $P < 0.001$ . È diverso perciò il comportamento dei vari elementi mantenuti in ambiente naturale e sottoposti a un campo elettrico.

C. SCALERA, L. DI BELLA, M.T. ROSSI e L. GUALANO (*Istituto di Fisiologia Umana, Cattedra di Fisiologia Generale, Università di Modena*)

**Effetto della melatonina (MLT) sopra il 2,3-DPG degli eritrociti circolanti di ratto.**

Dati gli effetti favorevoli sull'ossigenazione del sangue e dei tessuti dopo trattamento con melatonina (MLT), abbiamo indagato se cresceva nei globuli rossi il tasso di 2,3-DPG. Ratti di gr.  $312 \pm 41$  in narcosi nembutalica sono stati iniettati con MLT e.v. (mg. 1/Kg), ed il 2,3-DPG degli eritrociti determinato col metodo di LOWRIE e Coll. (*J. Biol. Chem.* 1964, **239**, 18) dopo 60 e 150 minuti dall'iniezione. Il 2,3-DPG ( $\mu\text{moli/ml}$  sangue) è passato da  $3.991 \pm 0.477$  a  $3.830 \pm 0.703$  dopo 60 min., a  $3.183 \pm 0.809$  dopo 150 min.

Negli animali controllo si è rilevata una corrispondente diminuzione da  $3.805 \pm 0.163$  a  $3.542 \pm 0.184$  dopo 60 minuti a  $3.305 \pm 0.208$  dopo 150 minuti. Le variazioni rilevate non sono significative per cui occorre concludere che la quantità di MLT non è stata sufficiente, o necessita di un tempo più lungo per agire o agisce diversamente.

Se il contenuto in 2,3-DPG si riferisce a 1 globulo rosso, tende a calare dopo trattamento con MLT. La differenza ha una modesta significatività dopo 60 min., buona dopo 150 minuti ( $0.01 < P < 0.005$ ).

La diminuzione del 2,3-DPG dopo 150 minuti dal trattamento con MLT potrebbe spiegare o contribuire a spiegare la maggiore ossigenazione rilevata nell'uomo dopo il trattamento stesso.

**Ulteriore contributo al meccanismo di produzione delle variazioni del 2,3-DPG intraeritrocitario dopo trattamento con melatonina (MLT).**

L'esochinase e la piruvatochinase sono inibite da un aumento della concentrazione del 2,3-DPG, per cui sono ridotti il consumo di glucosio e la produzione di lattato.

D'altra parte l'aumento del 2,3-DPG fa abbassare il pH intracellulare, e la glicolisi nella misura del 50%, essendo la membrana cellulare impermeabile all'anione del 2,3-DPG.

Poichè il consumo del glucosio viene accelerato, e quello del lattato cresce del 20-30% quando gli eritrociti calano di volume del 30%, intanto che aumenta la concentrazione di ATP e di fosfati inorganici, ma non di 2,3-DPG, abbiamo cercato eventuali variazioni di volume degli eritrociti negli animali trattati con MLT. Il MCV è passato da  $54,68 \pm 1,18$  (prima), a  $56,48 \pm 0,98$ , dopo 60 min., a  $53,03 \pm 0,24$  dopo 150 min. negli animali trattati con MLT; da  $58,36 \pm 0,63$ , a  $60,87 \pm 1,09$  dopo 60 min., a  $61,28 \pm 0,48$  dopo 150 min. nei controlli.

Le variazioni sono state significative dopo 150 min. nei ratti controllo, negli animali iniettati con MLT, ma non tra animali trattati e quelli controllo. Il contenuto in 2,3-DPG riferito al MCV è stato di  $75,471 \pm 17,952$  prima, di  $71,373 \pm 18,105$  dopo 60 min. e di  $60,237 \pm 15,996$  dopo 150 min. negli animali trattati con MLT; di  $65,528 \pm 4,170$  prima, di  $59,739 \pm 11,968$  dopo 60 min. e di  $54,352 \pm 7,5$  dopo 150 min. nei controlli.

La variazione dopo 150 min. è significativa sia nei ratti trattati con MLT che in quelli controllo ma non tra i trattati e quelli controllo. Riferito alla quantità di Hb, il 2,3-DPG si è mantenuto in rapporti molecolari superiori a 1 in tutti i ratti e nessuna differenza è stata significativa. Si può concludere che la MLT induce variazioni significative soltanto nel contenuto in DPG per G.R., indipendentemente dal MCV, e dalla concentrazione in Hb.

L. DI BELLA, M.T. ROSSI, G. SCALERA e G. TAROZZI (*Istituto di Fisiologia Umana, Cattedra di Fisiologia Generale, Università di Modena*)

### **Rilievi fisiologici ed effetti della melatonina (MLT) sulle talassemie.**

Da circa 2 anni abbiamo in corso una vasta sperimentazione in tutta la penisola sulle forme di Talassemia major e minor nei confronti della reazione subbiettiva, obbiettiva e laboratoristica alla somministrazione di MLT.

La quantità somministrata è stata di 1-2 mg/die generalmente a digiuno, e i risultati sono stati relativamente costanti e in alcuni casi affatto brillanti.

Colpiscono obbiettivamente: 1) il cambiamento del colore da giallo pallido a roseo della cute e delle mucose visibili; 2) l'aumento della vivacità; 3) la scomparsa dell'astenia; 4) la scomparsa della facile dispnea da sforzo.

Dal punto di vista obbiettivo i miglioramenti si possono documentare con: a) un aumento dell'intervallo tra una trasfusione e l'altra, uguale rimanendo la quantità di sangue trasfuso ogni volta e i criteri ispiratori della trasfusione (tasso emoglobinico inferiore a g. 7%; n° di eritrociti inferiore a 3 milioni/mm<sup>3</sup>; valore ematocritico inferiore a 24); b) i più elevati valori di Hb, di N° di globuli rossi, di valore ematocritico a riscontro periodico.

In qualche caso di Talassemia major splenectomizzato si è arrivati addirittura alla sospensione delle trasfusioni da un periodo che dura ormai da circa 2 anni. Non sappiamo ancora come agisce la MLT; possiamo precisare già alcuni aspetti della sua azione. Aumenta infatti notevolmente e significativamente il tasso dei reticolociti, e a volte compare in circolo qualche eritroblasto policromatofilo. Aumenta anche generalmente il tasso piastrinematico ed il numero dei leucociti circolanti, che in un caso, dopo circa un mese dall'inizio della cura intensa, aveva raggiunto e superato i 90mila elementi/mm<sup>3</sup> salvo a regredire poco dopo.

In alcuni casi si ha l'impressione che l'effetto sia relativamente fugace, in quanto sembra potersi notare una certa azione di rimbalzo verso i valori bassi iniziali. È inutile dire che qualora l'ipossia anemica sia responsabile del rallentato sviluppo psichico e somatico, che l'uno e l'altro traggono notevole giovamento dalla somministrazione di MLT.

### **Azione mielotropa della melatonina (MLT).**

L'azione favorevole nella talassemia della MLT non appare giustificata nè dalle variazioni del 2,3-DPG eritrocitario nè da altre modificazioni del sangue periferico.

Abbiamo perciò studiato i mielogrammi dopo 150 min. dall'iniezione endovena di melatonina nel ratto. Le letture venivano eseguite in campi randomizzati e le percentuali calcolate su almeno 700 elementi per striscio. Gli elementi della serie mieloide dal  $46,65 \pm 4,36$  dopo MLT sono passati al  $49,86 \pm 6,34$  nei ratti controllo; la differenza è significativa ( $0,05 < P < 0,025$ ).

Gli elementi della serie eritroide sono passati dal  $23,24 \pm 5,88$  dopo MLT al  $24,94 \pm 2,79$  nei controlli; la differenza non è significativa ( $0,20 < P < 0,15$ ). Il rapporto M/E è più basso, ma non significativamente, nei controlli.

Neanche i megacariociti subiscono variazioni significative. La serie linfoide cala significativamente ( $P < 0,025$ ) nei controlli da  $28,88 \pm 5,46$  a  $24,85 \pm 6,29$ . Una diminuzione dopo 150 min. dal trattamento con MLT potrebbe essere espressione o di accelerata immissione in circolo, o di ritardata maturazione.

La non significativa variazione della serie eritroide e megacariocitica potrebbe essere espressione o di una mancata incidenza della MLT, o di una influenza qualitativa, o della necessità di un intervallo di tempo più lungo. La diminuzione degli elementi della serie mieloide, bilanciata dall'aumento della serie linfoide, potrebbero accompagnarsi a variazioni inverse nel sangue circolante. In effetti i neutrofili aumentano nel sangue periferico dopo MLT di più che negli animali controllo mentre i linfociti calano.

La migliore ossigenazione dei tessuti dopo somministrazione di MLT ha probabilmente cause molteplici.

### **Influenza di cataboliti azotati normali sul sangue e midollo. Effetto dell'acido urico.**

L'acido urico si trova negli eritrociti normali (FOJIN & SVEDBERG: *J. Biol. Chem.*, 1930, **88**, 715); il suo trasporto è concentrazione-dipendente, il  $Q_{10}$  è 2.21, l'energia d'attivazione di circa 15800 Cal/mole (LASSEN: *Biochem. Biophys. Acta*, 1961, **53**, 557); il trasporto è fortemente inibito dall'ipoxantina (Idem: *Ibidem*, 1962, **57**, 111) e da altri derivati della purina (Idem: *Ibidem*, 1962, **57**, 118 e 123).

Non ci è sembrato perciò privo di interesse uno studio sugli effetti dell'ac. urico sopra il sangue ed il midollo. L'infusione e.v. di ac. urico (soluzione satura acquosa a pH  $9.41 \pm 1.81$ , a  $22^\circ\text{C}$ ; ml 3.42 a velocità costante in 171 minuti a ratti del peso di g.  $339 \pm 83.9$ ) ha fatto calare le plasmaproteine da  $5.22 \pm 0.25$  a  $4.406 \pm 0.24$  ( $0.01 < P < 0.001$ ) e ad un abbassamento dei linfociti nel sangue periferico da  $77.43 \pm 6.85$  a  $49.13 \pm 27.40$  ( $0.10 < P < 0.05$ ), senza nessun'altra modificazione di rilievo.

Data la scarsa solubilità dell'ac. urico in acqua (mg. 5.5% a  $22^\circ\text{C}$ ) un'altra serie di 6 ratti del di  $247.83 \pm 13.26$  si perfuse con soluzione 1% (p/v) ac. urico in  $\text{Li}_2\text{CO}_3$  0.4% (pH  $8.57 \pm 0.85$ ; 196.5 mOsm), ml 3.39 (=mg. 33.9) in 170 min., e una serie di ratti controllo perfusa con sola soluzione di  $\text{Li}_2\text{CO}_3$  0.4%.

Nel sangue periferico, ad eccezione dei neutrofili, che salirono, tutti gli altri dati (eritrociti, piastrine, linfociti, Hb, ematocrito, pres. Osmotica) calarono sia con soluzione di ac. urico+ $\text{Li}_2\text{CO}_3$  che con  $\text{Li}_2\text{CO}_3$ . Le differenze tra i risultati delle 2 infusioni furono scarsamente significative solo per alcuni dati (% neutrofili, Hb). Nel mielogramma le principali differenze si rilevarono al confronto fra  $\text{Li}_2\text{CO}_3$  e soluzione di ac. urico+ $\text{Li}_2\text{CO}_3$ .

Sono significative infatti sia la serie monocitica, sia le plasmacellule, sia la serie eritroide, sia il rapporto Miel/Er. Le variazioni nel sangue periferico provocate dal  $\text{Li}_2\text{CO}_3$  oscurano quelle contemporanee condizionate dall'ac. urico. Non altrettanto può dirsi per le ripercussioni sul midollo. Non è improbabile che anche l'ac. urico si possa riguardare sotto una luce diversa nei confronti di alcune categorie cellulari del midollo.



### **Influenza di alcuni cataboliti azotati nella funzione del midollo. Effetto dell'urea.**

Fra i normali cataboliti azotati l'urea è dei più diffusibili ed ubiquitari e non è forse questa una delle ultime ragioni dell'orientamento verso derivati dell'urea della ricerca di prodotti ad attività antitumorale (MOHLER: *Canc. Chemotherapy Rep.*, 1964, **34**, 1; STEARNS et alii: *J. Med. Chem.*, 1963, **6**, 201).

D'altra parte l'eritropoiesi si modifica nell'insufficienza renale (ADAMSON e Coll.: *Amer. J. Med.*, 1968, **44**, 725; ESCHBACH e Coll.: *New Engl. J. Med.*, 1967, **276**, 653; NATHAN e Coll.: *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1968, **149**, 539).

Abbiamo ritenuto, anche per i predetti motivi, giustificato uno studio sistematico degli effetti della perfusione d'urea sul sangue e sul midollo. Ratti maschi del peso di g.  $375 \pm 37.7$  sono stati perfusi con soluzione acquosa 1M d'urea per ca. 150 min., ed altri del peso di g.  $411 \pm 51.16$  sono stati perfusi con sol. 5M d'urea per oltre 3 hr. Né il n° degli eritrociti né il valore ematocritico, né il n° dei leucociti sono cambiati significativamente nel sangue periferico.

La %le dei neutrofili è salita mentre quella dei linfociti è calata significativamente nei 2 gruppi di ratti, che fossero stati perfusi con soluzione 1M o 5M d'urea. Le piastrine non mutano dopo perfusione con urea 5M, mentre calano ( $P < 0.001$ ) con urea 1M. Né l'Hb, né le proteine plasmatiche, né la pressione osmotica del sangue, né quella del midollo, né la pres. osmotica del plasma dei ratti perfusi con soluzione 1M di urea cambiano significativamente; aumenta solo ( $0.05 < P < 0.01$ ) la pres. osm. del plasma dopo perfusione con urea 5M. Il tasso uremico sale significativamente nelle 2 serie.

Nel midollo la serie mieloide aumenta ( $0.1 < P < 0.05$ ) solo dopo perfusione con soluzione 5M, e quella linfoide cala ( $0.1 < P < 0.05$ ) solo dopo perfusione con soluzione 1M. L'urea come tale è in grado di incidere su alcune caratteristiche biochimiche e morfologiche del sangue e del midollo.

### **Influenza dei plasma expander sulla cellularità del midollo.**

L'effetto dei plasma expander non si limita alla diluizione del sangue, ma si estende a numerosi altri aspetti (A. Segal: *The clinical use of dextran solutions*. Grune e Stratton, 1964, N.Y.). Noi abbiamo qui ricercato l'influenza di soluzioni acquose di destrano (Dx; p.m. 70.000;  $188,6 \pm 7,3$  m. Osm.) e di polivinilpirrolidone (PVP; p.m. 10.000;  $246,66 \pm 13,6$  m.Osm.) sulla cellularità del midollo osseo di femore e di tibia di ratti del peso di g  $350 \pm 93$  per il Dx; di  $356 \pm 46$  per il PVP, perfusi in narcosi nembutalica con le soluzioni acquose dei due plasma expander, alla velocità costante di infusione di ml 1,2/h, per tempi da 50 a 250 min. per il Dx; da 35 a 210 min. per il PVP.

La cellularità del midollo non sembra dipendere dalla durata della perfusione, nè dalla quantità complessiva di colloide artificiale infuso, ciò che stava ad indicare essere essa indipendente, entro i limiti degli esperimenti qui condotti, dalle modeste variazioni della pressione colloidale-osmotica del sangue circolante, che furono, alla fine degli esperimenti, di m.Osm. ( $\Delta\%$ )  $2,85 \pm 2,25$  per il plasma, di  $1,99 \pm 1,85$  per il sangue intero dopo infusione di PVP;  $-5,712 \pm 22,64$  per il plasma,  $-1,532 \pm 9,50$  per il sangue intero dopo infusione con Dx.

Se si prescinde dalla durata di perfusione e dalla quantità complessiva di plasma expander infuso, il numero totale di cellule del midollo per  $\text{mm}^3$  di midollo è stato trovato di  $1598 \times 10^3 \pm 618 \times 10^3$  dopo infusione di Dx, di  $1663 \times 10^3 \pm 701 \times 10^3$  dopo infusione di PVP: fra le due medie la differenza non ha nessuna significatività.

Si può concludere che eventuali modificazioni nel numero e nella distribuzione tra i vari tipi cellulari nel sangue periferico dopo infusione di plasma expander non debbono di necessità originarsi da interferenze col midollo. Esse possono verisimilmente anche originarsi da varie azioni nella distribuzione dei rapporti di velocità tra la corrente marginata e quella assiale, nonché da altri fattori periferici.

### **La pressione osmotica del midollo osseo dopo perfusione con plasma expander.**

Constatazioni sperimentali concordano nel suggerire l'importanza per la maturazione, la migrazione nei successivi compartimenti midollari (McCULLOCH e Coll.: *Biochim. Biophys. Acta*, 1974, **355**, 260) la trasmigrazione nei sinusoidi dell'acqua, non molto diversamente che nella midollare del rene di mammiferi (HARGITAY & KUHN: *J. Elektrochem.*, 1951, **55**, 539).

Nel flusso dell'acqua per i vari spazi midollari si innesterebbero i processi di maturazione, progressione, trasmigrazione degli elementi parenchimali del midollo. Abbiamo seguito le variazioni della pressione osmotica (p.o.) del midollo dopo perfusione e.v. di colloidi artificiali come destrano e polivinilpirrolidone (PVP).

Il midollo l'abbiamo prelevato alla fine della perfusione e.v. dei due colloidi. Alcuni midolli furono centrifugati alla temp. di  $0^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , alla velocità di 20000 rpm, per separare il liquido intercellulare - soprannatante dalle cellule parenchimali del sedimento. La p.o. del midollo intero è risultata preticamente indipendente dalla durata della perfusione, e dalla quantità assoluta e relativa di colloide infuso, che questo sia destrano o PVP.

La p.o. trovata è stata in media di  $465.33 \pm 52.316$  nei midolli di ratti perfusi con destrano; di  $m\text{Osm. } 422.66 \pm 55$  nei midolli di ratti perfusi con PVP per tempi di perfusione da 50 a 70 minuti col primo, da 167.5 a 210 minuti col PVP. Il midollo del radio dopo perfusione (da 50 a 280 minuti) ha nell'80% dei casi una p.o. più alta di quella della tibia e nel 100% dei casi più alta di quella del femore.

Si può concludere che i colloidi artificiali non sono in grado di fare aumentare la p.o. del midollo; che non tutti i midolli delle ossa lunghe si comportano in ugual maniera; che quello dell'omero tende ad avere i valori più alti.

### **Meccanismi di regolazione della pressione osmotica e funzione del midollo.**

L'attività riproduttiva degli elementi del midollo mantiene costante la costituzione cellulare del sangue, col quale debbono quindi intercorrere rapporti di omeostasi a "feed-back", riguardanti l'attività riproduttiva, la migrazione, la trasmigrazione dentro i sinusoidi.

In tutti questi processi il ricambio dell'acqua potrebbe avere importanza rilevante. Il midollo intero ha un abbassamento crioscopico minore di quello del sopranatante acellulare, probabilmente perchè il contratto con il termistore avviene solo in parte col liquido intercellulare, e in parte con la membrana degli elementi parenchimali, il cui citoplasma non era ancora congelato.

Perciò la pressione osmotica del liquido intercellulare è stata in media di 1,792 volte superiore a quella del midollo; il coefficiente ha ovviamente significato e valore costante qualora la cellularità del midollo, la costituzione e i caratteri fisici delle sue cellule rimangano costanti.

La pressione osmotica del midollo ( $Osm$ ) sarebbe legata a quella del sopranatante ( $Oss$ ) dalla relazione (1):  $Osm=k.Oss$  in cui  $k=0,556$ . Se la cellularità del midollo cambiasse la relazione (1) diventerebbe:

$Osm=f(Nm).Oss(r)$ , in cui  $f(Nm)$  è una funzione del numero delle cellule per  $mm^3$  di midollo. Dopo infusione e.v. di Dx e PVP la osmolarità del midollo dell'omero aumenta di circa 27 m.Osm/h, nella tibia di 13,8 m.Osm/h, nel femore di 1,26 m.Osm/h, praticamente cioè rimane costante.

Poichè la cellularità è più bassa nel midollo dell'omero, ma nel midollo del femore uguale a quella della tibia, non si può senz'altro affermare che la pressione osmotica varia nel tempo, dopo infusione e.v. di plasma expander, in funzione inversa alla cellularità del midollo. Anche se i plasma expander non sono in grado di modificare la pressione osmotica del midollo osseo subito dopo la fine della infusione, essi tuttavia inducono modificazioni sull'aumento lineare successivo in vitro.

### **Il mielogramma dopo infusione di plasma expander.**

Midolli di tibia e femore (l'omero è molto povero di midollo) si sono raccolti in pesa-filtri comuni e rapidamente mescolati con bacchetta di vetro smussa; la poltiglia è stata strisciata e i vetrini allestiti e letti.

I ratti, in narcosi nembutalica erano stati perfusi per intervalli variabili, da 35 a 210 min., e a velocità costante, con soluzione acquosa di destrano e PVP; alla fine della infusione erano stati il più possibile completamente dis-sanguati e il midollo enucleato dalle ossa lunghe dopo essere state fissate in una morsa e segate per il lungo.

Le letture eseguite su 54 vetrini di 19 ratti, di cui 14 perfusi e 5 controllo, su almeno 700 elementi per vetrino, sono state alquanto uniformi. Nè i mastociti, nè i megacariociti cambiano nei due gruppi. I monociti, la serie mieloide e le plasmacellule sembrano invece più riccamente rappresentate negli animali perfusi che nei controlli, mentre i linfociti e gli eritrociti sono rappresentati in minor percentuale nei ratti perfusi.

Se la diminuzione della percentuale di una serie fosse dipendente dalla più veloce migrazione verso il sangue, e se gli elementi rimanessero nel sangue per tutta la durata dell'esperimento si dovrebbe avere una linfocitosi ed eritrocitosi non confermata dai risultati sperimentali.

Probabilmente l'aumento è diluito ed anche invertito dall'aumento di volume del plasma. L'aumento della percentuale delle plasmacellule potrebbe spiegare l'aumento delle plasmaproteine in circolo. Nella perfusione con destrano le proteine sono cresciute nella metà dei ratti, in media del 42% e sono calate, nell'altra metà in media del 18%. Nella perfusione con PVP le proteine in circolo sono calate in 7 su 8 ratti.

Non basta ovviamente l'aumento della percentuale delle plasmacellule nel midollo per giustificare l'aumento delle plasmaproteine; diversità di comportamento esistono anche nei confronti della natura dell'agente responsabile dell'avvenuto aumento.