

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCVII.

1910

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XIX.

1° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

1910

Per ciò che riguarda la teoria *ormonica* invocata per spiegare il meccanismo della secrezione pancreatica dagli autori inglesi, io non credo che il risultato delle mie ricerche si presti ad una conferma di essa, intesa nel senso nel quale venne formulata.

E' vero che abbiamo dimostrato una certa secrezione durante la digestione alimentare o dopo l'ingestione di acido cloridrico ma questa è senza confronto, pur fatte le debite proporzioni trattandosi di una parte sola del pancreas e non dell'intero organo, inferiore a quella che si ottiene dalla fistola pancreatica, mentre invece tale proporzione si mantiene nel periodo del digiuno.

Se, come *a priori* (per ragioni di corrispondenza con quanto in altri campi della fisiologia è stato dimostrato) si deve ritenere, che la secrezione del segmento trapiantato sia dovuta a quei plessi nervosi che si trovano nel parenchima glandulare, si dovrà tener conto delle condizioni nelle quali si trovano tali plessi. Perchè si potrebbe supporre che la somministrazione di acido cloridrico o il processo digestivo apportino nella crasi sanguigna modificazioni capaci di esercitare una certa influenza sulla soglia di eccitabilità dei gangli nervosi simpatici, e che da ciò conseguano quelle lievissime differenze osservate nella secrezione pancreatica. Che lo stato di eccitabilità dei centri nervosi abbia la massima importanza sull'effetto della loro reazione agli stimoli è un fatto di comune osservazione. Perciò mi pare strano che alcuni autori non tenendo conto di tale eventualità, abbiano creduto d'aver dimostrata l'esistenza di *ormoni* quando i fenomeni da loro osservati potevano forse rappresentare soltanto l'effetto d'una modificata soglia d'eccitabilità nervosa, dipendente dallo stato della crasi sanguigna. Un argomento poi, che si può già addurre in appoggio alla mia tesi, si trova nel fatto che questa secrezione è sempre di uguale natura. Se essa fosse l'esponente d'una secrezione che, sia pure in minor copia, corrispondesse alla secrezione normale, essa dovrebbe risentire gli effetti dei diversi stimoli che la provocano, come avviene per la normale secrezione.

Fisiologia. — *Contributo alla biologia degli enzimi. L'azione del calore sulla lipasi ed amilasi del succo pancreatico* (¹). Nota di SABATO VISCO, presentata dal Socio L. LUCIANI.

Da qualche tempo, per consiglio del prof. Ugo Lombroso, ho intrapreso una serie di ricerche riguardanti il comportamento degli enzimi del tubo digerente, per determinare in vitro l'azione che esercitano su di essi i vari fattori che intervengono nelle condizioni fisiologiche. Nella presente Nota riferisco i risultati che ho ottenuti sottoponendo gli enzimi all'azione del calore.

(¹) Lavoro eseguito nel Laboratorio di Fisiologia della R. Università di Roma, diretto dal prof. Luigi Luciani.

Tale questione non è nuova; altri autori prima di me se ne sono occupati ma, poichè i dati di fatto ch'essi hanno raccolti, o non sono concordanti, o sono stati ottenuti in condizioni di temperatura differenti, di molto, da quelle che normalmente si verificano nel tubo enterico, ho creduto opportuno riprenderne lo studio.

Dalle indicazioni bibliografiche che mi è stato possibile di raccogliere, rilevo, come fatto indiscusso, che un riscaldamento prolungato superiore ai 60 gradi, distrugge le attività enzimatiche dei succhi digerenti. Per temperature inferiori però gli autori non sono d'accordo; e, mentre alcuni credono che il tenere per un certo tempo i secreti in un ambiente caldo, ne esalti le attività enzimatiche, altri invece affermano recisamente il contrario.

Henri e Pozerski avrebbero osservato che un riscaldamento a 40 gradi aumenta il potere digerente degli enzimi, Beebe (1) però che nel 1902 riprese lo studio dell'argomento sull'invertina, la saliva e la diastasi, non solo non confermò questo fatto, ma anzi qualche volta osservò una vera diminuzione d'attività delle sostanze prese in esame; cosa che avvenne pure ad Hanriot e Camus (2) che fecero oggetto dei loro studi la lipasi del siero di animali a sangue freddo.

Dastre e Stassano (3) in due lavori pubblicati nel 1903 riferiscono che la chinasi si altera alla temperatura ambiente e a quella della stufa, come pure il succo pancreatico, sia che questi due secreti siano separati, sia che siano mischiati, e che soltanto la presenza di albumina nel loro miscuglio riesce a difenderli dall'azione del calore.

Terroin (4) infine in una recentissima Nota, pubblicata quando già il mio lavoro era quasi compiuto, afferma che il potere lipolitico del succo pancreatico tenuto per alcune ore nella stufa a 40 gradi, non diminuisce visibilmente.

Ora io ho voluto studiare quale sia il comportamento degli enzimi del succo pancreatico sottoposto ad un riscaldamento prolungato di 39°-41°, — riscaldamento che rappresenta l'*optimum* di temperatura in cui s'esplicano le attività enzimatiche — tenendo, in modo particolare, nota del loro reciproco comportamento, come quello che più interessa per la conoscenza delle individuali proprietà degli stessi.

(1) Beebe, *On the influence of heat on Enzynus*. American Journal of Physiology, 1902.

(2) Hanriot et Camus, *Action de la température sur la lipase du serum d'animaux à sang froid*. Comptes rendus de la Société de Biologie, 1901.

(3) Dastre et Stassano, *Sur les facteurs de la digestion tripsique*. Comptes rendus de la Société de Biologie, 1903.

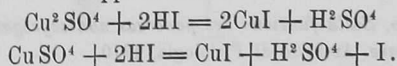
(4) Emile F. Terroin, *Zur kenntnis der Fettsplattung durch Pankreassaft*. Biochemische Zeitschrift, 1910.

METODI.

Lipolisi. — Nella determinazione del potere lipolitico mi son servito del seguente metodo: Mettevo in una provetta 4 cm.c. di olio di mandorle dolci e 1 cm.c. di succo pancreatico; poi agitavo fortemente per emulsionare, e lasciavo le sostanze in esame in termostato per il tempo voluto. Dopo con una soluzione $\frac{n}{10}$ (alcolica) di NaOH in presenza di fenoftaleina, calcolavo l'acido oleico liberatosi, così che il potere lipolitico del succo pancreatico mi veniva espresso dalla quantità in cm.c. di NaOH $\frac{n}{10}$ occorrente per neutralizzare l'acido oleico libero.

Amilolisi. — Per determinare il potere amilolitico mescolavo una certa quantità di succo pancreatico (1 cm.c.) con un grammo di amido sciolto in 30 gr. di acqua e cotto mediante ebollizione. Dopo che il miscuglio era stato per il tempo voluto in termostato, aggiungevo l'acqua necessaria per portare il liquido alla quantità di 50 cm.c. ciò che mi serviva per facilitare i calcoli e per pulire bene la capsula nella quale erano state le sostanze di prova. Per dosare la quantità di zucchero sviluppatasi ho usato il seguente metodo ch'è una modificazione portata dall'Embeden a quello del Lhemann. Si mettono in un Erlenmeyr 40 o 50 cm.c. di acqua più 10 cm.c. di Fehling A più 10 cm.c. di Fehling B, e si pone il tutto a bollire. Appena iniziata l'ebollizione si aggiunge il liquido del quale si vuol cercare il contenuto in zucchero (5 cm.c. nel nostro caso perchè il liquido contiene meno dell'1% di zucchero, altrimenti 1 cm.c.) e si lascia bollire per 2 minuti. Si raffredda quindi rapidamente sotto il rubinetto; poi vi si versano dentro 20 cm.c. di soluzione al 20% di KI e 20 cm.c. di H²SO⁴ al 25%, più una piccola quantità di colla d'amido come indicatore. Si titola quindi con tiosolfato sodico fino a colorazione bianco-rosa (titolazione reversiva). La quantità di tiosolfato adoperata per ottenere la scolorazione, tolta al titolo del Fehling (27,7 cm.c.) ci fornisce una cifra che riportata ad apposite tavole ci dà in mmgr. il quantitativo dello zucchero contenuto nei 5 cm.c. di liquido, e questa cifra moltiplicata per 10 indica il potere di riduzione calcolato quale glicosio dell'intero miscuglio.

Il principio del metodo consiste nel fare agire lo zucchero con un eccesso di liquido di Fehling. Una parte vien ridotta ad ossido ramoso (Cu²O); aggiungendo H²SO⁴ si ripristina il CuSO⁴ del Fehling A (trasformato dal tartrato sodico in Na²SO⁴) mentre da Cu²O si forma solfato ramoso. In presenza di HI (che si svolge da KI per reazione di H²SO⁴) si forma dai sali ramico e ramoso (CuSO⁴ — Cu²SO⁴) esclusivamente ioduro ramoso (CuI), ma soltanto dal primo con sviluppo di I.



È questo iodo sviluppatosi dal solfato non ridotto dallo zucchero che vien dosato col tiosolfato di sodio in presenza di colla d'amido come indicatore. Ond'è che per differenza e con l'aiuto della tavola si ricava la quantità di zucchero formatasi.

RISULTATI.

I succhi che ho esaminati nelle tabelle A e B mi furono forniti da un cane operato di trapianto sotto cute del *processus uncinatus* del pancreas (1) i rimanenti da un cane del peso di circa 12 Kg. al quale era stata fatta una fistola permanente alla Paulow.

Riporto le prime due tabelle semplicemente per dare un esempio dei risultati precedentemente ottenuti (un anno prima delle presenti ricerche) quando, studiando per altri scopi le proprietà enzimatiche del succo pancreatico, osservai che avvenivano modificazioni di esse, se adoperavo succo conservato (con iodoformio) da qualche tempo in ghiacciaia ove non sempre si metteva del ghiaccio e la cui temperatura variava tra i sette e dieci i gradi. Tanto più evidente risulta la depressione della attività lipolitica in questa esperienza, se si considera che io, quando mi accorsi del fatto, tenni maggior tempo in termostrato ad agire sulle sostanze di prova, il succo in esame. Non ho bisogno di dire che queste esperienze non essendo state fatte *ad hoc*, presentano il fianco a qualche obiezione; ciò non ostante però, per quanto intendo ora di dimostrare, esse sono utilizzabili e quindi le ricordo brevemente.

TABELLA A.

Succo I (raccolto dopo un pasto di pane e trippa).

Tenuto a temperatura variante tra i 7 e i 10 gradi per giorni:	Tenuto ad agire sull'olio e sull'amido in termostrato a 40° per ore:	Potere lipolitico	Potere amilolitico
1	0,45'	7,5	215
2	0,45'	9,5	220
5	2	1,5	230
7	2	1	230
8	2	0,4	230

TABELLA B.

Succo II (raccolto dopo un pasto di sola carne).

Tenuto a temperatura variante tra i 7 e i 10 gradi per giorni:	Tenuto ad agire sull'olio e sull'amido in termostrato a 40° per ore:	Potere lipolitico	Potere amilolitico
1	0,45'	15	225
2	1	8,5	222,5
3	1	4,5	239
4	2	2,5	299
6	2	1	289

(1) Ugo Lombroso, *Sulla funzione del pancreas non segregante nell'intestino, nell'assorbimento alimentare*. Archivio di Fisiologia, 1910.

TABELLA C.

Succo III (raccolto dopo un pasto d'idrati di carbonio).

	Potere lipolitico in un'ora a temperatura oscillante fra 39°-41°.	Potere amilolitico in un'ora a temperatura oscillante fra 39°-41°.
Non riscaldato	11,5	286
Dopo averlo riscaldato a tem- peratura oscillante fra 39°- 41° per ore:		
2	1,5	270
4	1,5	212
6	1	99,5

TABELLA D.

Succo IV (raccolto dopo un pasto di latte, pane e grasso).

	Potere lipolitico in un'ora a temperatura oscillante fra 39°-41°.	Potere amilolitico in un'ora a temperatura oscillante fra 39°-41°.
Non riscaldato	19	262
Dopo averlo riscaldato a tem- peratura oscillante fra 39°- 41° per ore:		
2	2,2	286
4	1,2	159

TABELLA E.

Succo V (raccolto dopo un pasto di sola carne).

	Potere lipolitico in un'ora a temperatura oscillante fra 39°-41°.	Potere amilolitico in un'ora a temperatura oscillante fra 39°-41°.
Non riscaldato	16	212
Dopo averlo riscaldato a tem- peratura oscillante fra 39°- 41° per ore:		
0,30'	8	262
1	13	240
1,30'	13,5	206,5
2	9	189
2,30'	6,2	189,5
3	4,5	249
3,30'	1	240
4	—	232

TABELLA F.

Succo VI (raccolto dopo un pasto di grasso e pane).

	Potere lipolitico in un'ora a temperatura oscillante fra 39°-41°.	Potere amilolitico in un'ora a temperatura oscillante fra 39°-41°.
Non riscaldato	12,5	295
Dopo averlo riscaldato a tem- peratura oscillante fra 39°- 41° per ore:		
1	2,4	329
2	1,8	278
3	1,2	231

Prendendo le mosse dall'osservazione di Dastre e Stassano (1) i quali avevano notato che, mentre l'attività proteolitica del succo pancreatico chinato, rapidamente scompare se tenuto ad una certa temperatura, mentre si conserva quando si mette in presenza di albumina sulla quale può esplicare la sua azione, ho voluto vedere come si comporta la lipasi pancreatica tenuta alla temperatura capace di distruggerla, quando può esercitare la sua attività sull'olio.

Riporto qui sotto due delle esperienze da me fatte.

Succo normale. — Tenuto 2 ore a 40° ad agire sull'olio (potere lipolitico)	20,4
Succo normale. — Tenuto 16 ore a 40° ad agire sull'olio (potere lipolitico)	60,0
Succo riscaldato a 40° per 2 ore. — Tenuto 14 ore a 40° ad agire sull'olio (potere lipolitico).	2,4
Acido oleico sviluppatosi in più nelle 14 ore	39,6
Succo normale. — Tenuto 2 ore a 40° ad agire sull'olio (potere lipolitico)	18,0
Succo normale. — Tenuto 16 ore a 40° ad agire sull'olio (potere lipolitico)	56,0
Succo riscaldato a 40° per 2 1/2 ore. — Tenuto 14 ore ad agire sull'olio (potere lipolitico).	4,0
Acido oleico sviluppatosi in più nelle 14 ore	38,0

Emerge dalle mie ricerche:

1) Che a temperatura ambiente la lipasi pancreatica lentamente si altera; mentre in poche ore perde completamente la sua attività se è tenuta in termostato a 39°-41°.

(1) Dastre et Stassano, *Sur les facteurs de la digestion tripsique*. Comptes rendus de la Société de Biologie, 1903.

2) Che l'amilasi pancreatica tenuta in termostato a 39°-41° presenta invece una maggior resistenza e talora una certa accentuazione della sua attività nel periodo di tempo coincidente con la quasi totale scomparsa del potere lipolitico.

3) Che successivamente anche l'attività amilolitica va lentamente scomparendo, in maniera però molto più lenta di quanto ho osservato per l'attività lipolitica.

4) Che la lipasi tenuta in termostato a 39°-41° non subisce l'influenza deleteria della temperatura quando ha già incominciato ad esercitare la sua azione sull'olio.

Mi è grato ora ringraziare l'illustre prof. Luigi Luciani, che gentilmente mi ha permesso di praticare queste ricerche nel suo laboratorio.

PERSONALE ACCADEMICO

Il Presidente BLASERNA dà il triste annuncio della morte del Corrisp. dott. SALVATORE LO BIANCO, avvenuta il 10 marzo 1910; apparteneva il defunto all'Accademia per la Zoologia e Morfologia, sino dal 15 luglio 1906. Annuncia anche la morte del Socio straniero prof. ALESSANDRO AGASSIZ, mancato ai vivi il 27 marzo 1910; faceva parte l'estinto dell'Accademia, per la Zoologia e Morfologia, sino dal 7 settembre 1888.

Lo stesso PRESIDENTE legge la Commemorazione seguente, del defunto Socio straniero FEDERICO GUGLIELMO KOHLRAUSCH:

KOHLRAUSCH nacque a Rinteln il 14 ottobre 1840, figlio del distinto fisico Rodolfo Kohlrausch, allora professore nel Liceo-Ginnasio di Rinteln. Nel 1857 il padre fu chiamato all'Università di Erlangen in qualità di professore ordinario di fisica, ma vi morì dopo un anno di cattedra. Il figlio proseguì gli studi, parte a Erlangen, parte a Gottinga, dove si laureò nel 1863. Nel 1875 fu nominato ordinario a Würzburg, nel 1878 a Strassburg, e nel 1895 ebbe l'importante successione di Helmholtz nella Presidenza della *Physikalisch-technische Reichsanstalt* a Charlottenburg, ufficio che tenne fino al 1905. Morì a Marburg il 18 gennaio 1910.

Scientificamente egli fu in contatto specialmente con suo padre e con Wilhelm Weber, il quale a Gottinga, parte nella sua collaborazione con Gauss, parte nelle sue proprie indagini, aveva arricchito quell'Istituto di una serie di congegni ed strumenti di grande efficacia per le misure magnetiche ed elettriche, che furono la guida nelle posteriori ricerche del giovane scienziato. Le sue misure, numerose ed esatte, sulla conducibilità degli elettroliti,