

ATTI  
DELLA  
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCXII.

1915

---

SERIE QUINTA

---

RENDICONTI

---

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

---

VOLUME XXIV.

1° SEMESTRE.



ROMA  
TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL DOTT. PIO BEFANI

1915

patogena di questo protozoo nell'uomo. Tutt'oggi tale questione può riassumersi nelle seguenti parole scritte dal Grassi sin dal 1888 <sup>(1)</sup>: « Se certe diarree croniche accompagnate da anemia appaiono indubitabilmente riferibili al Megastoma, vi sono per contrario individui, e non pochi, i quali pur ospitando questo parassita, anche in gran numero, godono di salute perfetta ».

Io ho voluto comunicare la mia osservazione ed il mio esperimento sopracennati, certamente non privi di interesse, perchè essi dimostrano che la *Lambliia intestinalis* può trovare nel fegato e nelle ghiandole linfatiche mesenteriche un ambiente adatto alla sua vitalità ed è probabile che in questo ambiente sia patogena.

**Fisiologia.** — *Sul metabolismo degli aminoacidi nell'organismo: Azione del tessuto epatico sugli aminoacidi aggiunti al sangue circolante.* Nota VII del dott. UGO LOMBROSO e di CAMILLO ARTOM, presentata dal Socio prof. L. LUCIANI.

Numerose ricerche sono state eseguite per determinare l'azione del fegato sugli aminoacidi. Ma la maggior parte di esse furono limitate alla indagine di alcune sostanze (corpi acetonici, acido lattico, urea, ammoniaca ecc.) che si supponeva avessero origine dagli aminoacidi; e gli autori appoggiavano o escludevano questa ipotesi, a seconda che tali sostanze aumentavano o no nel liquido circolante.

A noi sembra, per altro, che un giudizio, basato unicamente sull'esame del liquido circolante, non sia sufficientemente attendibile, trattandosi di sostanze che si trovano depositate, in copia più o meno notevole, nel tessuto epatico, e vengono facilmente riversate da questo nel liquido circolante.

Ma, astruendo da questa obiezione, dalla lettura dei precedenti autori emerge che nessuno ancora si è proposto lo studio *ex-professo* del comportamento degli aminoacidi circolanti nel fegato, e del loro definitivo destino: determinando a questo scopo le percentuali che vengono semplicemente depositate nel tessuto, le percentuali che vengono utilizzate per processi sintetici, e finalmente quelle che vengono effettivamente disaminate.

Frazionatamente si può ritrovare qualche indicazione, nei precedenti lavori, sui quesiti ora enunciati: ma per l'incompiutezza delle indagini, non si può giungere neppure ad una sicura interpretazione dei dati ottenuti.

Come potrebbesi, ad esempio, interpretare la scomparsa, anche elevatissima, di aminoacidi circolanti nel fegato, senza determinare almeno il loro quantitativo nell'organo, prima e dopo l'esperimento, dato che proprio il fegato è atto a trattenerli in grande quantità?

<sup>(1)</sup> Grassi, *Significato patologico dei protozoi parassiti dell'uomo*. R. Acc. Lincei, Classe di scienze morali, storiche, filologiche, 1888, 22 gennaio.

Van Slyke <sup>(1)</sup> ed allievi, studiando il destino degli aminoacidi iniettati direttamente nel sangue, affermarono che essi scompaiono perchè si depositano nei vari tessuti e prevalentemente nel fegato: ma mentre negli altri tessuti rimangono inalterati, nel fegato sono rapidamente scomposti dando luogo ad urea ed ammoniaca.

Il fegato inoltre distrugge successivamente gli aminoacidi depositati negli altri tessuti, man mano che si riversano nel torrente sanguigno.

Le osservazioni del van Slyke sono state però eseguite *in vivo*, nel qual caso troppi fattori si intersecano e si sovrappongono, rendendo difficile il localizzare i vari fenomeni nell'uno o nell'altro tessuto. Diveniva quindi necessaria, prima di accettare le conclusioni di van Slyke, una più diretta indagine. Tanto più che le ricerche di Fiske e Sumner <sup>(2)</sup> non paiono confermare le affermazioni di van Slyke.

Infatti questi autori, occupandosi del comportamento della glicocola nel fegato, constatarono che non vi era aumento di urea dopo circolazione di Ringer con glicocola nel fegato isolato.

In base ad esperienze eseguite con estratti epatici, G. Bostock <sup>(3)</sup> concluse per la presenza, nel fegato, di enzimi disaminanti; ma le sue affermazioni vennero contraddette da Levene e Meyer <sup>(4)</sup> in ricerche di controllo eseguite con una disposizione analoga.

Così pure dalle indagini di Buglia e Costantino <sup>(5)</sup> sull'azione del fegato di *scyllus catulus* in purea di fronte alla glicocola, risulterebbe la mancanza di enzimi disaminanti nel fegato. Infatti essi osservarono che non si modificava il quantitativo di aminoacidi in una mescolanza di purea di fegato con glicocola, nel senso di una loro distruzione, facendo gorgogliare o no l'ossigeno.

Emlden <sup>(6)</sup> ed allievi hanno dimostrato che condizionatamente alla presenza di alcuni aminoacidi (tirosina, leucina, fenilalanina, ecc.) si poteva ottenere, nella circolazione di fegato di cane, la produzione di corpi acetonicici. Altri aminoacidi, ad esempio l'alaniina, darebbero invece luogo alla produzione di acido lattico.

Riconosciamo attendibile la presunzione che tali corpi abbiano origine dagli aminoacidi. Però, mancando in queste ricerche il diretto controllo sul comportamento dell'aminoacido nel sangue e nel fegato, rimane sempre il dubbio che esso abbia agito semplicemente da catalizzatore per un processo che si compia a spese di altre sostanze che si trovano nel fegato stesso e sono capaci di compiere tale funzione.

<sup>(1)</sup> Journ. of. biol. chem., XVI, 187, an. 1913.

<sup>(2)</sup> Journ. of Biol. Chem. XVIII, 285, an. 1914.

<sup>(3)</sup> Biochem. Journ. VI, pag. 48, an. 1912.

<sup>(4)</sup> Journ. of biol. chem., XV, pag. 475, an. 1913.

<sup>(5)</sup> Zentralbl. Physiol. 26, H. 24, 1178, an. 1913.

<sup>(6)</sup> Biochem. Zeitschr. 38, 393, an. 1912; 55, 301, an. 1913 ecc.

ESPERIMENTO	AMINOACIDI aggiunti al sangue	S A N G U E														
		QUANTITÀ cm <sup>3</sup>	AMINOACIDI Na OH <sup>1</sup> / <sub>10</sub> n cm <sup>3</sup>					AMMONIACA H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> <sup>1</sup> / <sub>30</sub> n cm <sup>3</sup>			UREA mmgr. N-ureico			CORPI ACETONICI I <sup>1</sup> / <sub>10</sub> n cm <sup>3</sup>		
			Prima	Dopo	Differenza		Prima	Dopo	Differenza	Prima	Dopo	Differenza	Prima	Dopo	Differenza	
					Assol.	%										
I	—	600	21	49,4	+ 28,4	135,2	11,5	12,5	+ 1	117	200,3	+ 83,3	28	12,5	+ 15,5	
II	—	450	16,2	111,8	+ 95,6	590,1	13	42,8	+ 29,8	264,5	335,4	+ 70,9	13,5	5,7	+ 7,8	
III	α-alanina gr. 3	400	211	142,3	- 68,7	32,5	20	21	+ 1	95,4	106	+ 10,6	8	12,8	+ 4,8	
IV	α-alanina gr. 3	400	194,7	130,7	- 64,0	32,9	10	8,8	- 1,2	57,8	80	+ 22,2	4	14	+ 10	
V	α alanina gr. 2,1	350	182	156,3	- 25,7	14,1	11,6	9	- 2,6	102,8	158,3	+ 55,5	..	..	..	
VI	glicocolla gr. 2,5	350	198,6	147	- 51,6	26	11	7,9	- 4,1	35,8	40,1	+ 4,3	..	..	..	
VII	glicocolla gr. 2,5	300	187,5	152,6	- 34,9	18,6	..	..	..	43	83	+ 40	..	..	..	
VIII	leucina gr. 2,5	400	92	88,5	- 3,5	3,8	..	8	..	61,8	75,5	+ 13,7	8	8,8	+ 0,8	
IX	leucina gr. 2,5	400	104	114	+ 10	9,7	12,5	57,8	+ 45,3	91,1	117,2	+ 26,1	6,7	7,7	+ 1	
X	asparagina gr. 3 neutralizzata	400	118,4	72,8	- 45,6	38,5	16	74	+ 48	31,3	42,5	+ 11,2	..	..	..	
XI	asparagina gr. 3,5 neutralizzata	400	177,6	98,9	- 78,7	44,2	14	112	+ 98	33,2	50,2	+ 17,0	..	..	..	

- (<sup>1</sup>) Cane maschio kg. 19,5. Pressione Hg mm. 40-60. Velocità di circolazione cm<sup>3</sup> 42 al minuto.  
 (<sup>2</sup>) Cane maschio kg. 18. Pressione Hg mm. 10-20. Velocità cm<sup>3</sup> 60 per minuto. Durata della  
 (<sup>3</sup>) Cane maschio kg. 7. Pressione Hg mm. 10-20. Velocità cm<sup>3</sup> 45 per minuto. Durata della  
 (<sup>4</sup>) Cane maschio kg. 8,9. Pressione Hg mm. 30-50. Velocità cm<sup>3</sup> 38. Durata della circolazione  
 (<sup>5</sup>) Cane maschio kg. 28. Pressione Hg mm. 20-30. Velocità cm<sup>3</sup> 64. Durata della circolazione  
 (<sup>6</sup>) Cane maschio kg. 3,4 digiuno da 47 ore. Pressione Hg mm. 15-20. Velocità media cm<sup>3</sup> 40 al  
 (<sup>7</sup>) Cane femmina kg. 3 digiuno da 48 ore. Pressione Hg mm. 20-40. Velocità media cm<sup>3</sup> 40 al  
 (<sup>8</sup>) Cane femmina kg. 3,2 digiuno da 96 ore. Sangue diluito <sup>1</sup>/<sub>5</sub> con Ringer. Pressione Hg mm.  
 (<sup>9</sup>) Cane maschio kg. 4,2 digiuno da 6 giorni. Pressione media Hg mm. 20-30. Velocità 40 cm<sup>3</sup> al  
 (<sup>10</sup>) Cane maschio kg. 5,5 digiuno da 6 giorni. Pressione Hg mm. 25-40. Velocità cm<sup>3</sup> 50 al minuto.  
 (<sup>11</sup>) Cane maschio kg. 9,1 digiuno da 6 giorni. Pressione Hg mm. 20-80. Velocità cm<sup>3</sup> 60 al minuto.

O R G A N O													BILANCIO COMPLESSIVO  AMINOACIDI (nel sangue e nell'organo) NaOH $\frac{1}{10}$ n cm <sup>3</sup>	OSSERVAZIONI
P E S O gr.			AMINOACIDI Na OH $\frac{1}{10}$ n cm <sup>3</sup>				AMMONIACA H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> $\frac{1}{50}$ n cm <sup>3</sup>			CORPI ACETONICI I $\frac{1}{10}$ n cm <sup>3</sup>				
Prima	Dopo	Differenza	Prima	Dopo	Differenza		Prima	Dopo	Differenza	Prima	Dopo	Differenza		
					Assol	%								
450	580	+ 130	243	150,8	- 92,2	37,9	90	109,3	+ 19,3	31	23,2	- 7,8	Diminuzione 63,8	( <sup>1</sup> )
330	350	+ 20	206,8	182	- 24,8	12	121	70	- 51	46,2	28	- 18,2	Aumento 70,8	( <sup>2</sup> )
170	220	+ 50	12,2	14,5	+ 2,3	18,8	68	11	- 57	156,4	28,6	- 127,8	Diminuzione 66,4	( <sup>3</sup> )
210	260	+ 50	16	18,4	+ 2,4	15	245	..	..	..	..	..	Diminuzione 61,6	( <sup>4</sup> )
80	95	+ 15	40,8	36,1	+ 4,7	11,5	34,0	57,5	+ 23,5	..	..	..	Diminuzione 21,0	( <sup>5</sup> )
95	130	+ 35	39,9	90,7	+ 50,8	127,5	26,6	42,6	+ 16,0	..	..	..	Diminuzione 0,8	( <sup>6</sup> )
75	105	+ 30	28,5	59,3	+ 30,8	108	..	..	..	..	..	..	Diminuzione 4,1	( <sup>7</sup> )
110	125	+ 15	44	50	+ 6	13,6	22	56,3	+ 34,3	33	5	- 28	Aumento 2,5	( <sup>8</sup> )
95	110	+ 15	38	39,6	+ 1,6	4,2	64,3	105,6	+ 41,3	2,7	18,9	+ 16,2	Aumento 11,6	( <sup>9</sup> )
130	150	+ 20	58,3	69	+ 15,7	29,4	..	..	..	..	..	..	Diminuzione 29,9	( <sup>10</sup> )
195	305	+ 110	84,5	113,8	+ 29,3	34,6	65	160	+ 95	..	..	..	Diminuzione 49,4	( <sup>11</sup> )

Durata della circolazione 1 ora.

circolazione 1 ora.

circolazione 50'.

1 ora e 10'.

1 ora.

minuto. Durata della circolazione 1 ora.

minuto. Durata della circolazione 1 ora.

40-50. Velocità cm<sup>3</sup> 55 al minuto. Durata della circolazione 1 ora.

minuto. Durata della circolazione 1 ora.

Durata della circolazione 50'.

Durata della circolazione 1 ora e  $\frac{1}{2}$ .

\* \* \*

Le presenti ricerche sono state iniziate per giungere ad una più esatta valutazione dei risultati ottenuti dai precedenti autori, risultati in alcuni casi contraddittori, e per contribuire allo studio dell'azione del fegato sugli aminoacidi. Studio tanto più interessante, data la grande importanza che *a priori* si può supporre abbia il fegato nel ricambio intermedio delle sostanze proteiche, in analogia all'importanza che ad esso è già riconosciuta a proposito delle altre sostanze alimentari.

Bisognava determinare anzitutto se gli aminoacidi giunti al fegato vengono distrutti e quindi resi inutilizzabili dagli altri tessuti, oppure se, per opera del fegato, si inizia una ricostruzione di più complesse sostanze, similmente a quanto avviene per il glucosio ecc. ecc.

Il cane veniva ucciso per dissanguamento rapido dalla carotide: quindi, dopo abbondante lavaggio del sistema vasale con soluzione fisiologica, si asportava il fegato e lo si poneva a circolare nell'apparecchio di Lind, ad eccezione di uno o due lobi che venivano separati per servire come campioni dell'organo prima della circolazione. Il sangue defibrinato dello stesso animale, in quantità variabile da 300 a 600 cm.<sup>3</sup> secondo il volume dell'organo, entrava per la vena porta e fuoriusciva per le vene sovraepatiche: il coledoco e l'arteria epatica venivano legati. Dopo la circolazione, della durata di 1 ora circa, il fegato era aumentato di peso; e l'aumento in peso si assumeva come indice della quantità di sangue che rimaneva nell'organo, e che quindi doveva sottrarsi dalla quantità iniziale di sangue, nei calcoli sopra il sangue residuante dopo la circolazione. Il dosaggio degli aminoacidi nel sangue era eseguito col metodo del Sørensen, dopo eliminazione dell' $\text{NH}_3$  e precipitazione con ferro colloidale; il dosaggio dell'ammoniaca si eseguiva col metodo di Folin della corrente d'aria; quello dell'acetone, col metodo di Messinger Huppert; quello dell'urea, col metodo dell'ipobromito.

Nell'organo i dosaggi si eseguivano con gli stessi metodi sulla poltiglia fresca per l'acetone e l'ammoniaca, e sull'estratto idroalcolico per gli aminoacidi.

#### RIASSUNTO E CONCLUSIONI.

Dalle presenti ricerche risulta che:

1°) facendo circolare nel fegato isolato di cane aminoacidi sciolti nel sangue, si avverte sempre una loro notevole diminuzione, ad eccezione delle esperienze eseguite colla leucina;

2°) la diminuzione degli aminoacidi nel sangue circolante non è giustificata da un corrispondente aumento del loro contenuto nell'organo.

In qualche caso si avverte che gli aminoacidi nell'organo sono rimasti pressochè invariati quantitativamente;

3°) facendo circolare nel fegato sangue senza aggiunta di aminoacidi, si avverte un loro aumento nel sangue: aumento tanto più notevole, se si considera da un punto di vista comparativo e non assoluto, perchè supera di molto il  $100/100$ ;

4°) sia facendo circolare sangue con aminoacidi, sia facendo circolare sangue senza aggiunta di aminoacidi, si osserva talora un aumento nel contenuto dell' $\text{NH}_3$  nel sangue e sempre nell'organo circolato. Ma tale aumento fu assai inferiore a quello che potevasi attendere considerando il quantitativo di aminoacidi scomparsi, ad eccezione delle esperienze con asparagina, nelle quali l'aumento nel sangue fu assai notevole. A somiglianza dell' $\text{NH}_3$  si comporta l'urea del sangue, che aumenta però sempre considerevolmente in confronto all'aumento dell' $\text{NH}_3$ ;

5°) il contenuto in corpi acetonicici nel sangue aumentò in quasi tutte le esperienze; in tutte poi diminuì notevolmente il contenuto di detti corpi nel tessuto epatico. Non si può quindi escludere che l'aumento dei corpi acetonicici nel sangue non dipenda da un semplice riversamento. Ma d'altra parte, data l'attitudine del fegato di consumare rapidamente tali sostanze, non si può nemmeno escludere ch'esse si siano formate, ed in copia notevole, senza essere rilevabili all'esame perchè man mano bruciate.

Il maggior aumento in corpi acetonicici si ottenne nelle esperienze con leucina, in una delle quali si avvertì pure un aumento nel tessuto epatico.

\* \* \*

Se prendiamo in esame il complesso dei risultati ottenuti, si rileva anzitutto che due opposti processi si svolgono simultaneamente, mascherandosi a vicenda. E cioè da un lato la diminuzione degli aminoacidi aggiunti al sangue; e d'altro lato la formazione di aminoacidi nel fegato stesso.

Nelle indagini da noi eseguite si è potuto determinare soltanto il processo preponderante nella limitata misura con cui oltrepassa l'altro: una più esatta valutazione dei due processi sarebbe soltanto possibile di ottenere con ricerche di ordine qualitativo oltre che quantitativo: ricerche che non abbiamo eseguite, per le difficoltà tecniche che presentano.

Nelle esperienze eseguite con leucina i due opposti processi tendono ad equilibrarsi, e solo l'aumento specifico delle sostanze cetogene permette di affermare la distruzione di leucina.

Nei casi nei quali la diminuzione degli aminoacidi si dimostrò preponderante, essa non può spiegarsi come dovuta esclusivamente ad una combustione, poichè l'aumento di urea e di  $\text{NH}_3$  è proporzionalmente scarso ed un loro aumento eguale, ed anche superiore, si riscontrò pure senza l'aggiunta di aminoacidi. Perciò devesi ammettere che una parte degli ami-

noacidi scomparsi abbia servito alla formazione di complessi più o meno elevati. Il fegato si comporterebbe con gli aminoacidi assai similmente, sotto un certo aspetto, a come si comporta con gli idrati di carbonio, che ad esso giungono sotto forma di glucosio; una parte brucia direttamente, un'altra sintetizza per riversarla poi di nuovo successivamente nel sangue, in forma di glucosio.

Sull'intimo meccanesimo di queste due opposte funzioni del fegato, sintesi e liberazione di aminoacidi, non è ancor possibile di formulare alcuna ipotesi. Ci troviamo forse di fronte a quella singolare attitudine, che già in altri campi abbiamo studiato <sup>(1)</sup>, per cui un tessuto, un secreto dell'organismo, compie due opposti fenomeni, o per opera di due enzimi di funzione antagonista, o per la modificazione dell'attività di uno stesso enzima, a seconda delle differenti condizioni iniziali in cui vien posto ad agire.

Comunque sia, nel valutare l'azione del fegato nel ricambio delle sostanze proteiche si deve attribuire una grande importanza al fatto che esso non esplica soltanto un'azione distruggitrice sugli aminoacidi, con produzione di  $\text{NH}_3$  ed urea, come affermavano Van Slyke ed allievi: ma, come abbiamo dimostrato, esso è pure capace, ed in grado notevole, di sintetizzare e di produrre nuovi aminoacidi.

Ed è probabilmente con l'intrecciarsi di queste varie attitudini che il fegato riesce a compiere quelle complesse ed ancora oscure funzioni, che permettono di raggiungere l'equilibrio azotato, anche nelle più disparate condizioni iniziali.

**Chimica fisiologica.** — *Microtitolazione alla formaldeide per la determinazione quantitativa degli aminoacidi e le sue applicazioni in fisiologia.* Nota I. *Generalità sulla microtitolazione alla formaldeide e sua prima applicazione nello studio dei fermenti peptidoliiici.* Nota di ANTONINO CLEMENTI, presentata dal Socio L. LUCIANI.

Questa Nota sarà pubblicata nel prossimo fascicolo.

<sup>(1)</sup> U. Lombroso, Archivio di farmacologia e scienze affini, vol. XIV, pag. 429, 1912.