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

Fisiologia. — *Sul metabolismo degli aminoacidi nell'organismo. V: Sul metabolismo degli aminoacidi circolanti nel muscolo in funzione.* Nota del dott. UGO LOMBROSO e LUDOVICO PATERNI, presentata dal Socio LUIGI LUCIANI.

In una precedente serie di ricerche uno di noi [1] ha osservato che, facendo circolare nel tessuto muscolare di cane varî aminoacidi sciolti in liquido di Ringer, si avverte una più o meno notevole diminuzione del contenuto di aminoacidi del liquido circolante. Gli aminoacidi scomparsi venivano però ritrovati nella loro totalità, o quasi, depositati nel tessuto muscolare: e non potevasi quindi affermare che essi avessero preso una qualsiasi parte nel metabolismo del muscolo esperimentato.

Se, invece che nel liquido di Ringer, gli aminoacidi si scioglievano nel sangue dell'animale, allora si avvertiva una loro diminuzione anche maggiore; e soltanto una parte degli aminoacidi scomparsi si trovava depositata nel muscolo.

Tali esperienze erano state eseguite su tessuto muscolare in riposo. Abbiamo creduto meritasse il prezzo dell'opera il ripetere queste esperienze su tessuto muscolare mantenuto in attività funzionale: e ciò abbiamo fatto, sia per estendere le nostre conoscenze sull'argomento, sia per tentare di chiarire alcuni problemi che si erano affacciati nelle indagini precedenti.

Poco ci è noto del ricambio delle sostanze proteiche nel tessuto muscolare funzionante, e per lo più le indagini sono state limitate al comportamento delle proteine del plasma. Interessanti a questo proposito sono i risultati ottenuti dal Pugliese [2]; facendo circolare sangue nei muscoli tetanizzati, egli vide che si eleva notevolmente il quoziente delle sieroproteine non coagulabili al calore, le quali però si possono spontaneamente ripristinare, dimostrando quindi che il processo è di natura reversibile.

Sul comportamento degli aminoacidi circolanti in muscolo funzionante non esistono che le osservazioni del Buglia [3] su cuore di coniglio, con esito totalmente negativo: e ciò probabilmente, come già si è detto nella Nota precedente, perchè le ricerche del Buglia erano state eseguite con aminoacidi sciolti in liquido di Ringer. Dato che a noi invece, nelle esperienze con sangue, risultò una effettiva scomparsa di aminoacidi circolanti, si presentava interessante l'indagare se tale scomparsa veniva ad elevarsi, ed in quale misura, per effetto del lavoro muscolare.

[1] Rendiconti R. Accad. Lincei, vol. XXIV, pp. 57-149 (1915).
[2] Archives Italiennes de Biologie, vol. LV, pag. 359 (1901).
[3] Arch. di Farm. sper. e scienze affini, vol. XVII, pag. 227 (1914).

Inoltre, nelle esperienze di cui è riferito nella Nota sopracitata, non avevamo potuto determinare l'esatto destino di una parte degli aminoacidi scomparsi: e precisamente di quella che non poteva essere giustificata dall'aumento di NH_3 nel sangue. Sorgeva il dubbio che questa parte non fosse stata distrutta, ma utilizzata invece per processi sintetici con formazioni di più o meno elevati complessi di aminoacidi. Ovvero si affacciava l'ipotesi che gli aminoacidi scomparsi fossero stati realmente bruciati: ma che l'NH_3 liberatasi venisse in parte utilizzata alla formazione di altri corpi azotati. Sulla possibilità di utilizzare l'NH_3 per costituire sostanze azotate più complesse, testimoniano le ricerche di Embden ed allievi (1), dalle quali risulta che, facendo circolare NH_3 nel fegato, si può ottenere la formazione di aminoacidi. Inoltre, da Abderhalden ed allievi (2) è stato affermato che con soli sali diNH_3 si può mantenere l'equilibrio azotato, ed anche aver ritenzione di N.

Nelle presenti esperienze abbiamo sistematicamente determinato il quantitativo di acetone che si rinveniva nel sangue, prima e dopo la circolazione nel muscolo funzionante. In quantochè, secondo le importanti ricerche del Flatow (3), l'acetone si forma costantemente nella disaminazione dei varî aminoacidi.

***

Per l'esperimento si procedeva nel seguente modo:

Ucciso l'animale per dissanguamento, si disarticolava l'arto destro, isolando un tratto del nervo sciatico: si applicava un peso di gr. 200 all'estremità dell'arto, e lo si innestava nell'apparecchio di circolazione Lind.

Durante la circolazione si faceva contrarre l'arto ogni 3-5 secondi, con colpi di corrente indotta sullo sciatico; e quando questo appariva incapace di trasmettere l'eccitamento (dopo 20-30 minuti), si stimolava direttamente il tessuto muscolare.

I.

Cane maschio, kg. 7,100. — Circolazione con 410 cc. sangue e Ringer. Alanina gr. 3. Durata della circolazione 1 ora. Velocità tra 15 e 2 (1). Pressione 80-130 mm. Hg. Eccitabilità notevole. Si mantiene sino alla fine. Peso dell'arto prima della circolazione, gr. 415. Dopo gr. 440. Tessuto osseo gr. 115.

Sangue	Amcidi (2) in 15 cc.	p. (3) cc. 7,9 NaOH $^1/_{10}$ n		NH_3 in 100 cc.	d. cc. 2,5 H_2SO_4 $^1/_{50}$ n	Corpi acet.ci in 100 cc.	p. cc. 0,8 I $^1/_{10}$ n		
		d. (4) » 6,7	»	»			d. » 30	»	
Organo	Amcidi in gr. 50	p. » 16,7	»	»	NH_3 in gr. 50	p. » 5,5	»	»	
		d. » 17	»	»		d. » 7,5	»	»	

(1) Il numero di cc. di sangue che circolarono in m'. (2) abbr.: aminoacidi. (3) abbr.: prima della circolazione. (4) abr.: dopo la circolazione.

(1) Biochemische Zeitschrift, vol. XXXVIII, pag. 393 (1912).
(2) Zeitschrift f. Physiol. Chem., vol. LXXVIII, pag. 1 (1912).
(3) Zeitschrift f. Physiol. Chem., vol. LXIV, pag. 367 (1910).

Scompaiono nel sangue aminoacidi per cc. 44 NaOH $^1/_{10}$ n. Aumentano nel muscolo aminoacidi per cc. 10,3. Risulta un *deficit* per cc. 34,3 NaOH $^1/_{10}$ n.

II.

Cane maschio, kg. 6,500. — Circolazione con 500 cc. sangue e Ringer senza aggiunta di aminoacidi. Durata della circolazione ore 1 e mezza. Velocità tra 15 e 3. Pressione 70-110 mm. Hg. Eccitabilità discreta. Peso dell'arto prima della circolazione gr. 360. Dopo, gr. 385. Tessuto osseo gr. 90.

Sangue	Amcidi in 100 gr.	p. cc. 2,2 NaOH $^1/_{10}$ n	NH_3 in 100 cc.	d. cc. 3,5 H_2SO_4 $^1/_{50}$ n	Corpi acet.ci in 100 cc.	d. cc. 1,8 I $^1/_{10}$ n
		d. » 1,7 » »				
Organo	Amcidi in gr. 50	p. » 7,5 » »	NH_3 in gr. 50	p. 17 » »		
		d. » 9 » »		d. » 15 » »		

Scompaiono nel sangue aminoacidi per cc. 3 NaOH $^1/_{10}$ n. Aumentano nel muscolo aminoacidi per cc. 12,5 NaOH $^1/_{10}$ n.

III.

Cane maschio, kg. 4,100. — Circolazione con 500 cc. sangue e Ringer. Alanina gr. 4. Durata della circolazione 2 ore. Velocità tra 16 e 3. Pressione 70-100 mm. Hg. Eccitabilità notevole. Si mantiene sino alla fine. Peso dell'arto prima della circolazione gr. 390. Dopo, gr. 425. Tessuto osseo gr. 115.

Sangue	Amcidi in 15 cc.	p. cc. 11,6 NaOH $^1/_{10}$ n	NH_3 in 100 cc.	d. (perduta)	Corpi acet.ci in 100 cc.	p. (perduti)
		d. » 7,7 » »				d. »
Organo	Amcidi in gr. 50	p. » 18,5 » »	NH_3 in gr. 50	p. cc. 7 H_2SO_4 $^1/_0$ n		
		d. » 17,2 » »		d. » 4 » »		

Scompaiono nel sangue aminoacidi per cc. 147,9 NaOH $^1/_{10}$ n. Diminuiscono nell'organo per cc. 7,4 NaOH $^1/_{10}$ n. Risulta un *deficit* per cc. 155,3 NaOH $^1/_{10}$ n.

IV.

Cane femmina, kg. 4. — Circolazione con 420 cc. di sangue e Ringer. Alanina gr. 3. Durata della circolazione 20 minuti. Velocità tra 18 e 5. Pressione 80-110 mm. Hg. Eccitabilità notevolissima. Si mantiene fino alla fine. Peso dell'arto prima della circolazione gr. 270. Dopo gr. 275. Tessuto osseo gr. 70.

Sangue	Amcidi in 10 cc.	p. cc. 6,5 NaOH $^1/_{10}$ n	NH_3 in 100 cc.	d. cc. 7,5 H_2SO_4 $^1/_{50}$ n	Corpi acet.ci in 100 cc.	p. cc. 3,2 I $^1/_{10}$ n
		d. » 5,4 » »				d. » 44 »
Organo	Amcidi in gr. 50	p. » 6,2 » »	NH_3 in gr. 50	p. » 13 » »		
		d. » 7,4 » »		d. » 9,4 » »		

Scompaiono aminoacidi nel sangue per cc. 49 NaOH $^1/_{10}$ n. Aumentano nel muscolo aminoacidi per cc. 5,7 NaOH $^1/_{10}$ n. Risulta un *deficit* per cc. 41,5 NaOH $^1/_{10}$ n.

V.

Cane maschio, kg. 4,800. — Circolazione con 400 cc. di sangue e Ringer senza aggiunta di aminoacidi. Durata della circolazione 50 minuti. Velocità tra 16 e 2. Pres-

sione 70-120 mm. Hg. Eccitabilità notevole. Si mantiene fino alla fine. Peso dell'arto prima della circolazione gr. 320. Dopo gr. 335. Tessuto osseo gr. 90.

Sangue	Amcidi in 100 cc.	p. cc. 3,6 NaOH $^1/_{10}$ n	NH_3 in 100 cc.	d. cc. 9,5 H_2SO_4 $^1/_{50}$ n	Corpi acet.ci in 100 cc.	p. cc. 0,1 I $^1/_{10}$ n
		d. » 4 » »				d. » 4,4 »
Organo	Amcidi in gr. 50	p. » 11 » »	NH_3 in gr. 50	p. » 6,2 » »		
		d. » 8 » »		d. » 11,3 » »		

Aumentano nel sangue aminoacidi per cc. 1 NaOH $^1/_{10}$ n. Diminuiscono nel muscolo aminoacidi per cc. 11,4 NaOH $^1/_{10}$ n. Risulta un *deficit* per cc. 10,4 NaOH $^1/_{10}$ n.

VI.

Cane maschio, kg. 5,500. — Circolazione con 525 cc. sangue e Ringer. Glicocolla gr. 4. Durata della circolazione 2 ore. Velocità tra 15 e 2. Pressione 80-110 mm. Hg. Eccitabilità notevole. Si mantiene fino alla fine. Peso dell'arto prima della circolazione gr. 465. Dopo, gr. 500. Tessuto osseo gr. 120.

Sangue	Amcidi in 15 cc.	p. cc. 13,3 NaOH $^1/_{10}$ n	NH_3 in 100 cc.	d. cc. 45 H_2SO_4 $^1/_{50}$ n	Corpi acet.ci in 100 cc.	p. (perduti)
		d. » 10,9 » »				d. »
Organo	Amcidi in gr. 50	p. » 23,2 » »	NH_3 in gr. 50	p. » 37,5 » »		
		d. » 22 » »		d. » 18,5 » »		

Scompaiono nel sangue aminoacidi per cc. 105,8 NaOH $^1/_{10}$ n. Diminuiscono nell'organo aminoacidi per cc. 5,1 NaOH $^1/_{10}$ n. Risulta un *deficit* per cc. 110,9 NaOH $^1/_{10}$ n.

VII.

Cane femmina, kg. 4,500. — Circolazione con 420 cc. di sangue e Ringer. Alanina gr. 3. Durata della circolazione 55 minuti. Velocità tra 16 e 6. Pressione 70-110 mm. Hg. Eccitabilità notevole in principio; alla fine è nulla. Peso dell'arto prima della circolazione gr. 450. Dopo, gr. 470. Tessuto osseo gr. 105.

Sangue	Amcidi in 15 cc.	p. cc. 8,1 NaOH $^1/_{10}$ n	NH_3 in 100 cc.	d. cc. 2,5 H_2SO_4 $^1/_{50}$ n	Corpi acet.ci in 100 cc.	p. cc. 3,6 I $^1/_{10}$ n
		d. » 7,5 » »				d. » 14,6 »
Organo	Amcidi in 50 gr.	p. » 13,3 » »	NH_3 in 100 cc.	p. » 6,5 » »		
		d. » 14,1 » »		d. » 17,5 » »		

Scompaiono nel sangue aminoacidi per cc. 26,8 NaOH $^1/_{10}$ n. Aumentano nel muscolo aminoacidi per cc. 12,9 NaOH $^1/_{10}$ n. Risulta un *deficit* per cc. 13,9 NaOH $^1/_{10}$ n.

VIII.

Cane maschio, kg. 4,200. — Circolazione con 350 cc. di sangue e Ringer senza aggiunta di aminoacidi. Durata della circolazione 40 minuti. Velocità tra 16 e 2. Pressione 90-120 mm. Hg. Eccitabilità discreta; alla fine è minima. Peso dell'arto prima della circolazione gr. 260. Dopo, gr. 275. Tessuto osseo gr. 92.

Sangue	Amcidi in 100 cc.	p. cc. 4,2 NaOH $^1/_{10}$ n	NH_3 in 100 cc.	d. cc. 3,5 H_2SO_4 $^1/_{50}$ n	Corpi acet.ci in 100 cc.	p. cc. 0,4 I $^1/_{10}$ n
		d. » 4 » »				d. » 1,1 »
Organo	Amcidi in gr. 50	p. » 9,7 » »	NH_3 in gr. 50	p. » 6 » »		
		d. » 8,2 » »		d. » 9,5 » »		

Scompaiono nel sangue aminoacidi per cc. 1,3 NaOH $^1/_{10}$. Diminuiscono nel muscolo aminoacidi per cc. 2,5 NaOH $^1/_{10}$ *n*. Risulta un *deficit* per cc. 3,8 NaOH $^1/_{10}$ *n*.

IX.

Cane femmina, kg. 5,100. — Circolazione con 400 di sangue e Ringer. Alanina gr. 3. Durata della circolazione 55 minuti. Velocità tra 15 e 2. Pressione 70-190 mm. Hg. Eccitabilità notevole in principio; in fine è spenta. Peso dell'arto prima della circolazione gr. 490. Dopo gr. 515. Tessuto osseo gr. 140.

Sangue	Amcidi in 15 cc.	p. cc. 8,4 NaOH $^1/_{10}$ *n*	NH$_3$ in 100 cc.	d. cc. 6,2 H_2SO_4 $^1/_{50}$ *n*	Corpi acet.ci in 100 cc.	p. cc. 0,2 I $^1/_{10}$ *n*	
		d. » 7,5 » »				d. » 2,4 »	
Organo	Amcidi in gr. 50	p. » 9,8 » »	NH$_3$ in gr. 50	p. » 6,2 » »			
		d. » 12 » »		d. » 12 » »			

Scompaiono nel sangue aminoacidi per cc. 37,5 NaOH $^1/_{10}$ *n*. Aumentano nell'organo aminoacidi per cc. 9,8. Risulta un *deficit* per cc. 27,7 NaOH $^1/_{10}$ *n*.

X.

Cane maschio, kg. 7,500. — Circolazione con 500 cc. di sangue e Ringer. Asparagina (neutralizzata) gr. 4. Durata della circolazione 2 ore e mezza. Velocità tra 16 e 4. Pressione 70-100 mm. Hg. Eccitabilità notevole; in fine è nulla. Peso dell'arto prima della circolazione gr. 425. Dopo, gr. 465. Tessuto osseo gr. 150.

Sangue	Amcidi in 15 cc.	p. cc. 5 NaOH $^1/_{10}$ *n*	NH$_3$ in 100 cc.	d. cc. 32,5 H_2SO_4 $^1/_{50}$ *n*	Corpi acet.ci in 100 cc.	p. cc. 1,6 I $^1/_{10}$ *n*	
		d. » 4,1 » »				d. » 1,8 »	
Organo	Amcidi in gr. 50	p. » 10,5 » »	NH$_3$ in gr. 50	p. » 15 » »			
		d. » 12 » »		d. » 14 » »			

Scompaiono nel sangue aminoacidi per cc. 40,9 NaOH $^1/_{10}$ *n*. Aumentano nel muscolo aminoacidi per cc. 13,9 NaOH $^1/_{10}$ *n*. Risulta un *deficit* per cc. 27 NaOH $^1/_{10}$ *n*.

XI.

Cane femmina, kg. 4,700. — Circolazione con 500 cc. sangue e Ringer. Glicocolla gr. 3. Durata della circolazione 1 ora e mezza. Velocità tra 12 e 3. Pressione 90-120 mm. Hg. Eccitabilità notevole in principio, nulla nella fine. Peso dell'arto prima della circolazione gr. 270. Dopo, gr. 310. Tessuto osseo gr. 70.

Sangue	Amcidi in 15 cc.	p. cc. 10,3 NaOH $^1/_{10}$ *n*	NH$_3$ in 100 cc.	d. cc. 19 H_2SO_4 $^1/_{50}$ *n*
		d. » 9,1 » »		
Organo	Amcidi in gr. 50	p. » 14,7 » »	NH$_3$ in gr. 50	p. » 9 » »
		d. » 16,1 » »		d. » 10 » »

Scompaiono nel sangue aminoacidi per cc. 55,3 NaOH $^1/_{10}$ *n*. Aumentano nell'organo aminoacidi per cc. 18,4 NaOH $^1/_{10}$ *n*. Risulta un *deficit* per cc. 36,9 NaOH $^1/_{10}$ *n*.

XII.

Cane maschio, kg. 5,200. — Circolazione con 450 cc. sangue e Ringer. Alanina gr. 3. Durata della circolazione 1 ora e 45 minuti. Velocità tra 14 e 2. Pressione 80-

120 mm. Hg. Eccitabilità notevole in principio; in fine è nulla. Peso dell'arto prima della circolazione gr. 270. Dopo gr. 300. Tessuto osseo gr. 95.

Sangue	Amcidi in 15 cc.	p. cc. 10 NaOH $^1/_{10}$ n d. » 8,2 » »	NH_3 in 100 cc.	d. cc. 3 H_2SO_4 $^1/_{50}$ n	Corpi acet.ci in 100 cc. d. cc. 14 I $^1/_{10}$ n
Organo	Amcidi in gr. 50	p. » 16,4 » » d. » 15,1 » »	NH_3 in gr. 50	p. » 8,7 » » d. » 6,2 » »	

Scompaiono nel sangue aminoacidi per cc. 70,4 NaOH $^1/_{10}$ n. Diminuiscono nel muscolo per cc. 4,5 NaOH $^1/_{10}$ n. Risulta un *deficit* per cc. 74,9 NaOH $^1/_{10}$ n.

* * *

Dalle riferite esperienze risulta che:

I) facendo circolare aminoacidi sciolti in sangue nel tessuto muscolare funzionante, si avverte una loro diminuzione nel sangue in misura notevolmente superiore a quella osservata nelle analoghe esperienze eseguite sul muscolo in riposo;

II) il fenomeno dell'accumulo di aminoacidi nel tessuto muscolare, che, nelle esperienze con muscolo in riposo, era causa principale della scomparsa degli aminoacidi del sangue, non si presenta nelle esperienze con muscolo funzionante: in alcuni casi, al contrario, si ottenne persino una diminuzione nel contenuto di aminoacidi preesistenti nel tessuto;

III) nelle esperienze eseguite facendo circolare sangue senza aggiunta di aminoacidi in muscolo funzionante, si avvertì spesso una scomparsa percentuale (scarsa in misura assoluta, data la loro quantità limitata) degli aminoacidi contenuti nel sangue e di quelli del tessuto muscolare;

IV) la quantità di NH_3 che si rinviene nel sangue dopo la circolazione, è assai variabile nelle diverse esperienze, senza che però si possano tali oscillazioni mettere in rapporto con un corrispondente comportamento degli aminoacidi: nel senso che ad una maggiore scomparsa di aminoacidi corrisponda sempre, ed in eguale misura, una maggiore quantità di NH_3;

V) ancor più variabile è il risultato ottenuto nelle nostre ricerche sulla formazione di corpi acetonici: nelle esperienze con aminoacidi circolanti essa si mantenne fra limiti assai larghi: nelle esperienze con solo sangue fu sempre scarsissima.

Questo risultato merita una speciale menzione, perchè anzitutto ci dimostra che anche il tessuto muscolare, contrariamente all'affermazione dell'Embden, è capace di formare corpi acetonici ed in notevolissima misura. Ed ancora dimostra che anche l'alanina, la quale, secondo alcune ricerche dell'Embden sul fegato, sarebbe inibitrice della produzione di acetone, può essere invece origine di tale sostanza.

Rispetto poi a quei casi nei quali, pur avendosi una notevole scomparsa di aminoacidi nel sangue, non si ritrova una corrispondente quantità di acetone, una spiegazione può essere data dal fatto che il tessuto muscolare distrugge l'acetone stesso, come fu dimostrato dalle ricerche dell'Embden.

Comparando le cifre dell'NH_3 e quelle dell'acetone allo scopo di determinare il meccanesimo della scomparsa degli aminoacidi, si osserva, in qualche caso, che, di fronte ad una notevole quantità di acetone, la quantità rinvenuta di NH_3 è piuttosto scarsa, inferiore a quella che teoricamente era da attendersi, ammettendo che NH_3 ed acetone abbiano esclusivamente origine della scomposizione degli aminoacidi mancanti.

Tanto più saliente appare il *deficit* sull'NH_3 attesa, in quantochè la quantità di acetone, che abbiamo pur trovata superiore a quella dell'NH_3, era suscettibile, come già si è detto, di essere diminuita per processi di ossidazione.

Ma il quesito è assai più complesso di quanto non appaia a prima vista: altri fattori possono intervenire a complicare la disamina del fenomeno. Come ad esempio la possibilità che l'acetone abbia avuto origine da altre sostanze preesistenti nel muscolo (glicogeno-acidi grassi), e che l'aminoacido agevoli la formazione dell'acetone per un'azione simile a quella dei catalizzatori.

Lasciando che ulteriori ricerche chiariscano se effettivamente, come appare più probabile dai nostri risultati, la scomparsa degli aminoacidi sia dovuta, almeno per la maggior parte, ad un processo di combustione, e non a processi sintetici, un fenomeno molto importante emerge dalle presenti ricerche. Ed è, che, con l'attività funzionale il tessuto muscolare esalta profondamente la capacità di sottrarre gli aminoacidi circolanti nel sangue, allo scopo non di saturarsene, ma di utilizzarli per i processi del proprio metabolismo.

Fenomeno questo, la cui importanza appare tanto più manifesta, allo stato in cui presentemente si trova lo studio del ricambio delle sostanze proteiche in rapporto alla funzione del tessuto muscolare.

E. M.