

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCXII.

1915

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXIV.

2° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL DOTT. PIO BEFANI

1915

Chimica fisiologica. — *Sul metabolismo degli aminoacidi nell'organismo* (1). Nota IX del dott. prof. UGO LOMBROSO, presentata dal Socio LUCIANI.

RIASSUNTO E CONCLUSIONI. — Nella serie delle precedenti Note abbiamo studiato l'azione che vari organi isolati esercitano sugli aminoacidi in essi circolanti, sia sciolti in sangue, sia sciolti in liquido di Ringer.

Scopo delle nostre ricerche era l'indagare anzitutto se gli aminoacidi venivano o no utilizzati, e se quelli eventualmente utilizzati erano sottoposti a processi di sintesi o di disamidazione. Molti tentativi erano già stati eseguiti a questo intento; ma, come già accennammo, si potevano rivolgere ad essi varie obiezioni che non permettevano di trarre alcuna conclusione risolutiva dai dati di fatto esposti. Così, ad esempio, in alcune esperienze eseguite da vari autori con amino-acidi disciolti in liquido di Ringer, la mancata utilizzazione di questi ultimi si poteva attribuire, più che alla incapacità dell'organo studiato a consumare dette sostanze, alla diminuita capacità funzionale dell'organo stesso, dovuta ad insufficiente scambio gascoso.

In altre esperienze poi, essendosi gli autori limitati a dosare gli aminoacidi nel liquido circolante prima e dopo la circolazione, trascurando di determinare le modificazioni nel contenuto in amino-acidi dell'organo sperimentato, sorgeva facile l'obiezione che la principale causa delle variazioni, dai detti autori osservate nel contenuto in amino-acidi del liquido circolante, si dovesse ricercare nell'attitudine che hanno i vari organi (ved. van Slycke ed allievi) di trattenere grande copia di amino-acidi saturandosene.

Inoltre, nelle ricerche antecedenti, manca una analisi specificata allo scopo di determinare se l'avvenuta scomparsa di amino-acidi circolanti, sia dovuta alla loro distruzione, o, piuttosto, ad una loro sintesi.

A queste deficienze abbiamo cercato di sfuggire nelle indagini riferite nelle precedenti Note, lusingandoci di portare così un più positivo contributo alla soluzione di questo ardente ed interessante problema.

Ed allo scopo di meglio illuminare i fenomeni comuni ai vari tessuti, e nello stesso tempo distinguere le singolari e specifiche attitudini di ciascuno di essi, crediamo utile di raccogliere qui brevemente, confrontandoli e riassumendoli, i risultati ottenuti.

(1) Lavoro eseguito nel Laboratorio di fisiologia della R. Università di Roma, direttore prof. Luciani.

Per ciò che riguarda il tessuto muscolare (¹), dobbiamo anzitutto osservare che, quando si eseguisce la circolazione di un arto con liquido di Ringer contenente amino-acidi disciolti, si ottiene è vero, una diminuzione di questi nel liquido circolante, ma non si può affermare che vi sia una loro utilizzazione da parte del tessuto, poichè nel tessuto stesso si ritrova un aumento, nel contenuto di amino-acidi pressochè pari agli amino-acidi mancanti.

Si tratta dunque evidentemente di un semplice fenomeno di saturazione.

Anche nelle esperienze eseguite con amino-acidi sciolti in sangue e fatti circolare nel tessuto muscolare lasciato in riposo, si avverte un aumento nel contenuto di amino-acidi del tessuto.

Però tale aumento non è sufficiente a spiegare la diminuzione degli amino-acidi riscontrata nel sangue: per cui si può affermare che una certa quantità di amino-acidi è stata effettivamente utilizzata. Ma il fenomeno più appariscente, in rapporto all'attitudine del tessuto muscolare nella utilizzazione degli amino-acidi, si ottenne in esperienze nelle quali la circolazione si svolgeva in un arto posteriore mantenuto in attività funzionale mediante stimolazioni elettriche ritmiche sul nervo sciatico o direttamente sul muscolo.

In queste esperienze si ebbe una notevolissima sottrazione di amino-acidi senza che ad essa corrispondesse un aumento nel contenuto degli amino-acidi del tessuto: anzi, in qualche caso, si trovarono diminuiti nel tessuto quelli preesistenti.

Inoltre, nelle ricerche col tessuto muscolare funzionante, ho potuto in qualche caso riscontrare una produzione di corpi chetonici in quantità molto cospicua.

Questo risultato è molto interessante, perchè ci avverte anzitutto che, contrariamente all'ipotesi di Embden ed allievi la formazione dei corpi acetonicici non è una proprietà specifica del tessuto epatico: di più, il fenomeno da noi osservato tenderebbe a farci concepire la scomparsa degli amino-acidi come dovuta ad un processo di decomposizione.

Io dico tenderebbe, e non dico dimostra, perchè non abbiamo potuto constatare nelle nostre esperienze una quantità di NH_3 corrispondente nè agli amino acidi scomparsi, nè ai corpi acetonicici rinvenuti; per quanto un certo aumento di NH_3 si sia sempre avvertito.

A questo proposito si possono prospettare varie ipotesi. In primo luogo, considerando che, come hanno dimostrato recenti studi, si può raggiungere

(¹) I. *Azione del tessuto muscolare sugli amino-acidi aggiunti al sangue circolante.* U. Lombroso. R. Acc. Lincei, vol. XXIV, pag. 57 (1915).

II. *Azione del tessuto muscolare sugli amino-acidi aggiunti al liquido di Ringer circolante.* U. Lombroso R. Acc. Lincei, vol. XXIV, pag. 148 (1915).

V. *Sul metabolismo degli amino acidi circolanti nel muscolo in funzione.* U. Lombroso e L. Paterni, R. Acc. Lincei, vol. XXIV, pag. 1870 (1915).

l'equilibrio azotato somministrando ad animali soltanto sali di NH_3 , viene suggerita l'ipotesi che l' NH_3 formatosi sia stato in queste esperienze utilizzato per qualcuno di quegli ancora oscuri processi sintetici che devono svolgersi per giustificare un tale equilibrio azotato.

Ovvero si potrebbe pensare che l' NH_3 sia stata utilizzata per la formazione dell'urea, e perciò sfuggita alla formoltitolazione (al controllo di quest'ultima eventualità sono iniziate delle ricerche, sulle quali prossimamente riferiremo).

Non è possibile, del resto, escludere che i corpi acetonicici si siano sviluppati da altre sostanze che non siano gli amino acidi, la presenza dei quali ne favorirebbe la formazione senza prendervi parte diretta; e che la scarsità dell' NH_3 si debba al fatto che gli amino-acidi scomparsi hanno prevalentemente servito alla formazione di complessi non titolabili al formolo.

Nelle esperienze eseguite con la circolazione dell'intestino isolato (¹), si sono potute verificare alcune notevoli differenze di comportamento in confronto a quanto abbiamo constatato nelle esperienze con tessuto muscolare.

Anzitutto, anche facendo circolare amino-acidi sciolti in liquido di Ringer, si constata una loro effettiva e notevole diminuzione, nel senso che l'aumento riscontrato nel tessuto non corrisponde, come avveniva nel muscolo, al quantitativo di amino-acidi scomparso.

Nelle ricerche poi eseguite con gli amino-acidi sciolti in sangue, pure essendo maggiore la quantità di amino-acidi scomparsi, l'aumento di essi nel tessuto intestinale non avviene; in qualche caso, persino si nota una diminuzione di quelli preesistenti. Il che erasi avvertito anche nel muscolo mantenuto in attività funzionale, mai nel muscolo in riposo.

Di fronte ad una così notevole scomparsa complessiva di amino-acidi nelle esperienze con sangue, non si avverte una corrispondente formazione di NH_3 e neppure di corpi acetonicici.

L'intestino si differenzia, dunque, dal tessuto muscolare funzionante, per ciò che si riferisce ai corpi acetonicici, ma non per ciò che riguarda l' NH_3 . Complessivamente i risultati ottenuti in queste esperienze favoriscono più nettamente l'interpretazione che i fenomeni svoltisi a carico degli amino-acidi siano di carattere prevalentemente sintetico.

Nelle ricerche eseguite invece con liquido di Ringer, l' NH_3 si ritrovò in misura assai più rilevante, tale da giustificare una buona parte degli amino-acidi scomparsi. Questo differente risultato nella produzione di NH_3 ,

(¹) IV. *Azione dell'intestino sugli aminoacidi aggiunti al sangue o al liquido di Ringer circolante.* U. Lombroso. R. Acc. Lincei, vol. XXIV, pag. 475 (1915).

VI. *Sul destino degli amino-acidi contenuti nel lume o sulla mucosa dell'intestino.* U. Lombroso e C. Artom. R. Accad. Lincei, vol. XXIV, pag. 863 (1915).

ottenuto nelle esperienze su intestino isolato, a seconda che gli amino-acidi erano disciolti nel liquido di Ringer o nel sangue, è molto interessante, perchè ci rivela una duplice attitudine dell'intestino di fronte agli amino-acidi, con prevalenza dell'una o dell'altra a seconda delle condizioni sperimentali. Nel senso che, quando l'intestino viene bene ossigenato e mantenuto sopravvivate in condizioni più simili alle normali, prevalgono i fenomeni sintetizzanti, mentre prevale l'attitudine disamidante quando l'attività funzionale dell'intestino è più imperfettamente conservata.

La differente azione dell'intestino sugli amino-acidi, a seconda del liquido in cui essi sono disciolti, può dare anche ragione delle differenti opinioni che militano a proposito delle modalità nell'assorbimento delle sostanze proteiche. Alcuni autori, e particolarmente il Folin ed allievi, avendo constatato che nel sangue della vena porta il contenuto in NH_3 non è sensibilmente maggiore che in quello arterioso, ritengono che l'assorbimento intestinale delle sostanze proteiche avvenga sotto forma o di amino-acidi o di complessi di essi più o meno elevati. Altri autori (Nenki-Cohnhein), avendo eseguito la circolazione nell'intestino isolato col liquido di Ringer, constatando l'aumento di NH_3 nel liquido circolante; od in seguito al dosaggio dell' NH_3 nel sangue portale, avevano affermato che anche nell'assorbimento alimentare avveniva la trasformazione degli amino-acidi in NH_3 nella mucosa intestinale. Dalle nostre ricerche viene appoggiata la dottrina del Folin; ma nell'istesso tempo viene dimostrato che nelle speciali condizioni sperimentali, usate dagli altri autori, l'intestino può agire quale disamidante.

Nel rene ⁽¹⁾ la circolazione artificiale si svolge con modalità assai differenti quando si sperimenta con Ringer da quando si sperimenta con sangue. Nel secondo caso la circolazione è lentissima: a mala pena 3-5 cc. di sangue attraversano l'organo per ogni minuto, anche tenendo assai elevata la pressione; mentre con Ringer la circolazione è persino dieci volte più rapida. Perciò si avrebbe ragione *a priori* di attenderci, in queste esperienze, una maggiore utilizzazione degli amino-acidi.

Ma ciò non è; anche per il rene si avverte nelle circolazioni con sangue, non ostante la lentezza della circolazione stessa, una maggiore utilizzazione effettiva degli amino-acidi aggiunti. Nelle esperienze con Ringer prevale il fenomeno della semplice deposizione degli amino-acidi, nell'organo, in quantità tale che in qualche caso (non in tutti, come pel muscolo) corrisponde e giustifica quindi il quantitativo scomparso dal liquido circolante.

Complessivamente la quantità di amino-acidi scomparsi è sempre stata lieve.

Per ciò che riguarda il destino degli amino-acidi, parte di essi fu certamente distrutta; e particolarmente nelle esperienze di circolazione con

⁽¹⁾ III. Azione del rene sugli amino-acidi aggiunti al sangue od al liquido di Ringer circolante. C. Artom, R. Acc. Lincei, vol. XXIV, pag. 468 (1915).

liquido di Ringer si avverte un aumento di NH_3 che giustifica la maggior parte degli amino-acidi mancanti. L'acetone venne soltanto in poche esperienze determinato; non se ne ritrovò in misura notevole (eccezione fatta di una esperienza), e quindi non si può trarre alcuna luce da esso.

Assai interessanti risultano i dati di fatto raccolti nelle esperienze di circolazione del fegato isolato (¹).

Anzitutto, facendo circolare nel fegato vari amino-acidi (alanina, asparagina, leucina, glicocola) sciolti in sangue, si osserva con alcuni di essi (alanina, asparagina) una diminuzione grandissima degli amino-acidi; una diminuzione lievissima si avverte con la glicocola; nessuna diminuzione, anzi un aumento (dovuto al riversarsi nel liquido circolante, di amino-acidi liberatisi dal tessuto epatico), sperimentando con la leucina. Naturalmente, non si può trarre da questi dati una conclusione in assoluto rapporto con le cifre ottenute, in quantoche nei risultati interferisce, a modificarne il valore, il fatto della produzione di amino-acidi da parte del tessuto epatico. Ma, ciò non ostante, rimane sempre di notevole interesse il fenomeno considerato sotto un punto di vista qualitativo, se non quantitativo, quale indice cioè dell'attitudine del fegato a meglio utilizzare alcuni amino-acidi piuttosto che altri.

Tale attitudine si riscontra, ed in misura ancor più cospicua, nelle esperienze eseguite col liquido di Ringer, salvo che con questa disposizione la glicocola scompare in maggior misura.

In tutte le esperienze poi, eseguite sia con sangue sia con Ringer, senza aggiunta di amino-acidi, si osserva la formazione di essi da parte del tessuto epatico in quantità abbastanza rilevante, similmente a quanto erasi osservato in qualche esperienza con l'intestino.

Nelle ricerche eseguite col liquido di Ringer si avverte inoltre una produzione di NH_3 assai cospicua, quale non erasi mai osservata in nessun altro organo, e tale da giustificare buona parte degli amino-acidi scomparsi.

Invece, nelle esperienze eseguite col sangue, l' NH_3 formatosi è assai più scarso, per quanto la quantità di amino-acidi scomparsi sia, nelle esperienze stesse, superiore che non in quelle col liquido di Ringer. Il che armonizza con quanto abbiamo constatato nelle altre indagini su altri tessuti, e dimostra sempre più chiaramente che i vari organi possono esplicare, di fronte agli amino-acidi, le più diverse attitudini, e cioè sintetizzarli, disamidarli e produrne: e che or l'una or l'altra di queste attitudini prevale, a seconda delle speciali condizioni nelle quali l'organo si trova a funzionare.

(¹) VII. *Azione del tessuto epatico sugli amino-acidi aggiunti al sangue circolante.* U. Lombroso e C. Artom, R. Acc. Lincei, vol. XXIV, pag. 1166 (1915).

VIII. *Azione del tessuto epatico sugli amino-acidi aggiunti al liquido di Ringer circolante.* U. Lombroso e C. Lucchetti R. Acc. Lincei, vol. XXIV, pag. 1263 (1915).

Per ciò che riguarda la formazione dell'urea da parte degli amino-acidi (argomento che è stato oggetto di molti studi recenti), un fatto che colpisce nelle nostre ricerche è quello che la massima produzione di urea si ottenne precisamente in quelle esperienze in cui si usò puro sangue senza aggiunta di amino-acidi, e che in quelle nelle quali amino-acidi erano aggiunti non si rinvenne una corrispondenza fra urea formatasi ed amino-acidi scomparsi, nel senso di una maggiore produzione di fronte ad una maggiore scomparsa.

Credo interessante, a questo proposito, di ricordare alcune ricerche pubblicate, contemporaneamente alle mie, dal Jansen (¹), che, con altra disposizione sperimentale, giunge a risultati che conducono ad una simile constatazione. Lo Jansen sperimentò vari amino-acidi sciolti ora in sangue ora in soluzione di Ringer più corpuscoli rossi.

Per esaurire (così dice) le sostanze « urogenetiche » del liquido circolante, egli eseguì una circolazione di mezz'ora, prima di aggiungere amino-acidi.

Quando adoperò sangue *in toto*, la quantità di urea ritrovata, sia nella prima mezz'ora sia nelle successive, dopo l'aggiunta degli amino-acidi, era notevolissima. Invece, nelle esperienze con Ringer e corpuscoli rossi, l'urea ritrovata fu assai scarsa dopo la prima mezz'ora; e di poco si accrebbe nelle successive mezz'ore, dopo l'aggiunta degli amino acidi.

Dalle ricerche dello Jansen non risulta chiaro quale sia stata la partecipazione degli amino-acidi usati nella genesi dell'urea, perchè egli non ne determina il comportamento. Però, dato che ottenne una pressochè uguale quantità di urea, sia usando asparagina, sia usando leucina (sostanze che noi abbiamo visto utilizzate in misura ben differente dal fegato), ne consegue che gli amino-acidi aggiunti ebbero una importanza del tutto secondaria nella formazione dell'urea.

La condizione più favorevole alla formazione dell'urea appare dunque sia data dalla presenza delle proteine del siero; ciò conduce a ritenere che il fegato, per esplicare la sua fondamentale funzione ureogenetica, utilizzi direttamente le proteine del sangue piuttosto che gli amino-acidi in esso contenuti.

Questa conclusione contraddice all'opinione accettata dai più, secondo la quale il ricambio intermedio proteico si estrinsecerebbe esclusivamente per mezzo di amino-acidi, e le sostanze proteiche genuine del sangue avrebbero una funzione passiva, quale è quella di mantenere lo stato colloidale, la viscosità del substrato ecc. ecc.

Non si può naturalmente escludere che le proteine del sangue, nei processi complicati che si compiono nel fegato per la loro trasformazione in

(¹) The journal of. Biological Chemistry, vol. XXIV, pag. 551 (1915).

urea, non pervengano anche allo stato di amino-acidi: ma, pur ammettendo tale eventualità, resta pur sempre mutato il valore della partecipazione presa da dette sostanze nella genesi dell'urea, e, in genere, nel ricambio proteico.

* * *

Prendendo ora in esame il complesso dei vari risultati ottenuti, emergono alcune considerazioni interessanti.

Nelle esperienze col liquido di Ringer, e più ancora in quelle col sangue, si constata che non tutti gli amino-acidi si comportano ugualmente, e che quelli più utilizzati da un tessuto lo siano pure dall'altro. La glicocola, ad esempio, molto bene utilizzata dal muscolo in funzione, lo è poco dal fegato. L'alanina è molto bene utilizzata dal rene e dall'intestino, meno dal muscolo ecc. ecc.

Non si può quindi affermare che vi siano amino-acidi genericamente più utilizzabili; ma appare invece più probabile che ogni singolo tessuto possieda specifiche elettività di fronte ai vari amino-acidi. Soltanto l'asparagina risultò, nelle nostre indagini, genericamente ed in quantità maggiore sottratta al liquido circolante, con tendenza alla disamidazione. Ma per formulare al proposito più precise affermazioni, sarebbero necessarie ulteriori apposite ricerche. Valgano i dati raccolti, pertanto, per una designazione dell'interessante fenomeno.

Una osservazione che in maggiore o minor misura, ma pressochè in tutte le esperienze eseguite col sangue, abbiamo fatto, è che, di fronte ad una più o meno notevole scomparsa di amino-acidi, non si è potuta riscontrare una quantità corrispondente di corpi (NH_3 -acetone) che giustificassero tale scomparsa come dovuta ad una disamidazione; per cui appare probabile che siano stati utilizzati per costituire complessi di amino-acidi.

Invece, nelle esperienze con liquido di Ringer si osservò, l'attitudine opposta, e cioè (particolarmente nell'intestino e nel fegato) quella di sottrarre amino-acidi con formazione di NH_2 .

Siccome poi è stata dimostrata pel fegato (Emden) la capacità di formare amino-acidi anche sintetizzando l' NH_3 col gruppo chetonico, risulta che sono molteplici i fenomeni di carattere antagonistico che si compiono nei vari tessuti: sintesi e liberazione di amino acidi; disamidazione e formazione, dall' NH_3 , di amino-acidi.

Le condizioni nelle quali si sperimenta determinano volta a volta il prevalere dell'uno o dell'altro di questi processi, che probabilmente in misura variabile sempre si compiono: ma a noi non è dato conoscere se non quello preponderante, in quella misura per cui supera gli altri.

L'importanza che potrà assumere una ulteriore e più profonda discriminazione delle cause e degli agenti che dirigono in uno stesso tessuto queste così varie funzioni, non sfuggirà ad alcuno che abbia seguito la com-

plexa ed ancora incerta letteratura che riguarda la così detta « reversibilità delle azioni enzimatiche », argomento che sinora aveva limitato il suo campo quasi esclusivamente alla sintesi dei grassi e glucosidi. Già a proposito della sintesi dei grassi per opera del secreto pancreatico abbiamo dimostrato ⁽¹⁾ come sia difficile di considerarla come dovuta allo stesso enzima idrolizzante per la legge di un vero o falso equilibrio, ma più probabilmente all'azione di un altro enzima coesistente nel secreto, od alla modificazione radicale dell'enzima stesso. L'allargare il campo delle ricerche su nuovi gruppi di sostanze, ci potrà forse permettere di chiarire le ipotesi già enunciate in proposito.

Ci basti per ora l'aver menzionato, oltre alle deduzioni che si possono trarre direttamente dalle nostre ricerche, o dalla comparazione dei vari risultati, quelle altre ricerche e quegli altri problemi che ne vengono suggeriti e messi in valore.

Genetica. — *Variazione nel Cosmos bipinnatus* Cav.

Nota di B. LONGO, presentata dal Socio R. PIROTTA.

Nel R. Orto botanico di Siena è coltivato da molti anni il *Cosmos bipinnatus* a fiori di color vario ⁽²⁾. Esso nasce anche da sè qua e là in qualche aiuola dove nell'autunno sono caduti gli acheni.

Durante l'estate del 1913, tra le piante del suddetto *Cosmos*, viventi in un'aiuola davanti al mio laboratorio, se ne notò una che nell'asse principale diversificava notevolmente dalle altre piante ed anche dagli altri suoi stessi rami, i quali erano — almeno apparentemente — normali. Questa pianta di *Cosmos* aveva emesso in basso, ai primi internodi, quattro rami che si mostravano, come ho detto, normali, mentre l'asse si allontanava sempre più dal tipo man mano che cresceva per raggiungere il massimo di differenziazione alla fioritura.

Com'è noto, il *Cosmos bipinnatus* presenta foglie opposte, connate, bipinnato-sette, a lacinie lineari-filiformi; rami portanti numerosi capolini terminali ed ascellari sorretti da sottili peduncoli; e ciascun capolino fornito d'involucro doppio eterogeneo: l'esterno costituito da brattee verdi, ovato-lanceolate acuminatae, o strettamente lineari, non addossate; l'interno invece costituito da brattee giallo-verdastre, semi-diafane, ovali, subottuse, addossate.

⁽¹⁾ Archivio di Farmacologia e Scienze affini, vol. XXIV, pag. 429 (1912).

⁽²⁾ S'intende, naturalmente, la corolla dei fiori ligulati del raggio.