ATTI

DELLA

REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCXIII.

1916

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXV.

2° SEMESTRE.

ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL DOTT. PIO BEFANI

1916

Come penetra il fungo nella castagna? Il tegumento esterno sembra del tutto intatto. Sembrerebbe perciò logica, a prima vista, la supposizione che l'infezione possa avvenire nella regione, chiamiamola così, « caudicolare » del frutto, ove più facilmente si producono delle lesioni. Se però si spaccano delle castagne non ancora totalmente invase dal fungo, si può facilmente osservare che l'alterazione si verifica in qualunque parte del frutto.

Ora se si ammette che il fungo non sia capace di attraversare la buccia della castagna (il che è però ancora al tutto da chiarire e non lo ritengo neanche probabile) vien fatto di supporre che l'infezione possa avvenire fin dal fiore, che cioè i germi fungini penetrino nell'ovario attraverso lo stigma, producendo uno scarso micelio, che si svilupperebbe poi nel frutto maturo, qualora questo si trovi in opportune condizioni di umidità e di temperatura. Si avrebbe, insomma, a che fare con una vera e propria infezione parassitaria.

In conclusione molti problemi restano da risolvere riguardo a questo grave malanno delle castagne.

Gli è perciò che, anche dietro incitamento del prof. Cuboni, ho ritenuto opportuno di iniziare recentemente delle ricerche allo scopo di recare qualche contributo almeno a qualcuno di tali problemi. Finora ho potuto ottenere delle colture pure su varî sustrati, con abbondantissima formazione di micelio, prima bianco-argentino, poi grigio, quindi olivaceo, ma le colture essendo relativamente giovani, non hanno ancora dato luogo ad alcuna forma fruttifera.

Chimica fisiologica. — *Sugli elementi che condizionano l'attività degli enzimi glicolitici.* I: *Gli enzimi glicolitici del pancreas e i corpuscoli del sangue.* Nota del dott. prof. Ugo Lombroso, presentata dal Socio Luciani.

In alcune indagini sperimentali, eseguite da me e da C. Artom che collabora in questo gruppo di ricerche, avevo osservato che una soluzione di glicosio in liquido di Tyrode, messa in termostato, dopo prolungata circolazione in pancreas sopravvivente, e lasciata ivi per lungo tempo, non modificava il suo contenuto zuccherino. Un fenomeno opposto, e cioè una profonda e rapida distruzione del glicosio, si manifestava allorchè, invece di liquido di Tyrode, si era adoperato, per la circolazione nel pancreas, sangue defibrinato con glicosio.

Su questo fenomeno e sul quesito che ne sorge, non trovo alcun contributo nella letteratura precedente. Numerose invece sono state le indagini sperimentali sulla influenza che estratti di tessuto pancreatico esercitano nella distruzione del glicosio.

A determinare queste ricerche valse la persuasione che andava via via acquistando maggior credito, che la funzione interna del pancreas si esplicasse con l'elaborazione di enzimi glicolitici, i quali, circolando nell'organismo, provvedessero al consumo degli idrati di carbonio nei varî tessuti ed organi. Se non che i risultati ottenuti a questo proposito dai varî autori, sono spesso in disaccordo.

Il Cohnheim, che lungamente si è occupato di tale argomento [1], afferma che il semplice estratto di pancreas possiede una lieve azione glicolitica: così pure l'estratto di tessuto muscolare. Gli estratti di questi due tessuti uniti insieme dimostrerebbero un'azione glicolitica singolarmente più energica, così da far pensare che solo per la cooperazione di questi due fattori si ottenga una glicolisi praticamente importante nel metabolismo degli idrati di carbonio. Questi risultati trovarono piena conferma nei lavori di Hirsch [2], Arnheim e Rosembaum [3], De Meyer [4], Dewitt [5], Hall [6].

Per contrario molti altri studiosi affermarono che nessun effetto glicolitico si ottiene per l'azione separata o simultanea degli estratti di tessuto pancreatico e muscolare: così Embden e collaboratori [7], Rona e Arnheim [8], Claus e Embden [9], Mac Guigan [10]. Questi autori attribuiscono i risultati positivi ottenuti dagli altri esperimentatori all'azione di bacteri.

D'altra parte, come ritiene lo stesso Mac Guigan in un lavoro posteriore in collaborazione con Von Hess [11], l'insuccesso delle esperienze, in cui, per premunirsi da tali inquinamenti bacterici, si era fatto uso di toluolo o di cloroformio, può essere dovuto ad una azione paralizzante dell'antisettico sull'enzima glicolitico. Ciò in base ad esperimenti di controllo sulla glicolisi nel sangue ottenuto asetticamente, nei quali l'aggiunta di toluolo e di cloroformio arresta la glicolisi.

Levene e Meyer [12] spiegano la discordanza nei risultati degli autori precedenti, come dovuta probabilmente a più fattori; essi misero in rilievo la grande importanza che nel decorso della glicolisi hanno, non soltanto le condizioni di più o meno perfetta asepsi, ma anche i differenti gradi di con-

(1) Zeitschr. f. physiol. Chem. XXXIX, pag. 336, 1903; ibid., XLII, pag. 401, 1904; ibid., XLIII, pag. 547, 1904-05; ibid., XLVII, pag. 253, 1906.
(2) Hofmeister's Beiträge, IV, pag. 535, 1903.
(3) Zeitschr, f. physiol. Chem. XL, pag 240, 1904.
(4) Arch. intern. de physiol. II, 1905.
(5) Journal of experiment medic. VIII, pag. 193, 1906.
(6) Amer. Journal of physiol., pag. 285, 1907.
(7) Brochem. Zeitschr., XLV, p. 63 e 94, 1912.
(8) Ibid., XLVIII, pag. 35, 1913.
(9) Hofmeister's, Beiträge, pag. 214, 1915.
(10) American Journal of physiol., VXII, pag. 351, 1908.
(11) Amer. Journal of physiol., XXX, pag. 340, 1912.
(12) Journ. of Biol. Chem., XI, pag. 953, 1912.

centrazione dello zucchero, l'alcalinità o acidità della soluzione, le diverse abitudini di vita (carnivori, erbivori) degli animali sperimentati ecc. ecc.

Questi autori ritengono che, nella maggior parte dei casi, anche di ricerche precedenti, si tratta non di una glicolisi, ma di una diminuzione del potere riducente della soluzione zuccherina dovuta a fenomeni di sintesi del glicosio.

Ma un'altra spiegazione può formularsi per interpretare l' insuccesso da noi avuto nelle esperienze *in vitro* sulla glicolisi del liquido di Tyrode circolato nel pancreas; ed è una spiegazione che ci viene suggerita dallo studio delle condizioni necessarie per lo svolgimento della glicolisi nel sangue.

È stato dimostrato che la glicolisi nel sangue non si svolge per l'azione del siero: quest'ultimo può rimanere anche lungamente in termostato con glicosio senza distruggerne affatto.

L'aggiunta della parte corpuscolare è necessaria perchè la glicolisi si svolga (Rona e Döbling) (1).

D'altro lato i corpuscoli senza siero non dimostrano potere glicolitico Mac Leod (2).

La glicolisi dunque è condizionata alla presenza contemporanea di questi due elementi, siero e corpuscoli.

Tutti gli autori poi si accordano nel riconoscere la grande importanza che nel fenomeno della glicolisi esercitano i leucociti, come già asseriva Lépine (3) e come definitivamente dimostrarono Levene e Meyer (4).

Appariva quindi logico di riprendere lo studio del comportamento della glicolisi nelle soluzioni di liquido di Tyrode e glicosio circolate nel pancreas, aggiungendo a tali soluzioni corpuscoli del sangue. Che se con tale disposizione si riusciva a dimostrare che avviene glicolisi, allora potevasi concludere che il pancreas provvede bensì alla formazione di enzimi glicolitici, e li riversa nei liquidi in esso circolanti, ma che il manifestarsi di questi enzimi è condizionato dalla presenza dei corpuscoli del sangue, o forse di qualche altro elemento. Dico di qualche altro elemento perchè *a priori* non si può escludere che esista qualche altro elemento, oltre ai corpuscoli del sangue, capace di esplicare un'azione analoga per lo svolgersi del fenomeno glicolitico.

Nelle esperienze da noi eseguite si esportava il pancreas ad un grosso cane appena ucciso per dissanguamento, e si sottoponeva a circolazione artificiale nell'apparecchio di Lind, usando come liquido di circolazione la soluzione di Tyrode, a cui erasi aggiunto glicosio nella proporzione di circa 1 %.

(1) Biochem. Zeitschr., XXXII, pag. 489, 1911.
(2) Journ. of Biol. Chem., XV, pag. 497, 1913.
(3) Dictionn. de physiol. Ch. Richet, Maçon, Paris.
(4) Journ. of Biol. Chem., XI, pag. 361, 1912.

Il liquido raccolto dopo un'ora di circolazione era messo in termostato con corpuscoli del sangue dello stesso animale ottenuti mediante centrifugazione. Per controllo si serbavano in termostato per un egual tempo un gruppo di provette contenenti il liquido di circolazione senza aggiunta di corpuscoli, ed un altro gruppo di provette contenenti soluzione di Tyrode non circolata, glicosio e corpuscoli di sangue. I dosaggi del glicosio erano eseguiti col metodo di Lehmann Embden.

I.

Cane maschio, kg. 18. — Pancreas peso gr. 20; dopo circolazione gr. 50. Liquido di Tyrode cm.³ 220 + gr. 2 glicosio. Durata della circolazione ore 1 ½. Pressione 80-100 mm. Hg. Velocità cm.³ 12 per minuto.

	Potere riducente mmgr. glicosio
5 cc. liquido prima di circolare	50,9
Appena cessata la circolazione:	
5 cc. liquido dopo la circolazione	49,3
Dopo 3 ore di permanenza in termostato:	
5 cc. liquido circolato	49,3
5 cc. " " + corpuscoli	32,3
Dopo 18 ore di permanenza in termostato:	
5 cc. liquido circolato	47,0
5 cc. " " + corpuscoli	19,3
5 cc. " " " dopo idrolisi con HCl	23,0

II.

Cane maschio, kg. 25. — Pancreas peso gr. 50; dopo circolazione gr. 70. Liquido di Tyrode cm.³ 200 + glicosio gr. 2. Durata della circolazione 1 ora. Pressione 60-80 mm. Hg. Velocità cm.³ 18 per minuto.

	Potere riducente mmgr. glicosio
Appena cessata la circolazione:	
5 cc. liquido non circolato	47,9
5 cc. liquido circolato	45,9
Dopo 3 ore di permanenza in termostato:	
5 cc. liquido circolato	45,9
5 cc. " " + corpuscoli	45,9
5 cc. " non circolato + corpuscoli	47,9
Dopo 6 ore di permanenza in termostato:	
5 cc. liquido circolato	45,9
5 cc. " " + corpuscoli	39,1
5 cc. " non circolato + corpuscoli	47,9
Dopo 20 ore di permanenza in termostato:	
5 cc. liquido circolato	45,9
5 cc. " " + corpuscoli	12,5
5 cc. " non circolato + corpuscoli	47,0

III.

Cane maschio, kg. 20. — Pancreas peso gr. 30; dopo circolazione gr. 55. Liquido di Tyrode cm.³ 200 + glicosio gr. 2. Durata della circolazione ore 1 ½. Pressione 80-100 mm. Hg. Velocità media cm.³ 10 per minuto.

	Potere riducente mmgr. glicosio
Appena cessata la circolazione:	
5 cc. liquido non circolato	46,3
5 cc. » circolato	45,7
Dopo 5 ore di permanenza in termostato:	
5 cc. liquido circolato	45,7
5 cc. » » + corpuscoli	38,6
5 cc. » non circolato + corpuscoli	44,5
Dopo 20 ore di permanenza in termostato;	
5 cc. liquido circolato	45,2
5 cc. » » + corpuscoli	24,2
5 cc. » non circolato + corpuscoli	36,8
5 cc. » circolato + corpuscoli, idrolizzato con HCl	27,5
5 cc. » non circolato + corpuscoli, idrolizzato con HCl	38,4

Dalle precedenti esperienze risulta che:

1° Soluzioni di glicosio in liquido di Tyrode circolato nel pancreas e quindi poste in termostato non diminuiscono il loro contenuto in glicosio.

2° Se a dette soluzioni si aggiungono corpuscoli del sangue, allora si avverte una profonda diminuzione del potere riducente per una vera distruzione del glicosio, e non già per una semplice condensazione molecolare di esso.

3° Corpuscoli di sangue aggiunti a soluzioni di glicosio in liquido di Tyrode non circolato in pancreas, non modificano, come nel caso precedente, il contenuto in glicosio.

Questi risultati sono molto interessanti in quanto dimostrano che il pancreas anche in queste condizioni sperimentali, così poco vicine a quelle naturali, immette nel liquido circolante un enzima glicolitico, ma che detto enzima per manifestare la sua attività ha bisogno della presenza e collaborazione di altri fattori, che, nel presente caso, sono rappresentati da corpuscoli del sangue.

È da ricercarsi con altre esperienze se soltanto questi elementi figurati, o se invece anche altri, siano sufficienti allo svolgersi della glicolisi (come io ritengo più probabile anche in base al dato di fatto, che durante la circolazione nel pancreas si distrusse glicosio, ma che lo stesso liquido circolato messo da solo in termostato, non agisce più sul glicosio, probabilmente perchè non collaborano più gli elementi cellulari del pancreas).

Così pure sono da sottoporre ad una revisione completa, e con la disposizione sperimentale suggerita dal risultato delle presenti esperienze, le anteriori affermazioni, secondo le quali gli estratti pancreatici ed il secreto pancreatico esterno non sono capaci di determinare una glicolisi; affermazioni che, specialmente per ciò che riguarda il secreto pancreatico esterno, hanno costituita la base della importante dottrina che ha stabilito una distinzione essenziale tra la funzione esterna e quella interna del pancreas.

Su tali quesiti sono in corso esperienze sulle quali riferiremo in una prossima Nota.

Chimica fisiologica. — *Sul metabolismo del glicosio in organi sopravviventi.* II: *Azione del pancreas sul glicosio in esso circolante.* Nota di CAMILLO ARTOM, presentata dal Socio L. LUCIANI.

In una Nota precedente [1] è stata messa in rilievo l'importanza di uno studio sistematico del ricambio del glicosio nei varî organi col metodo delle circolazioni artificiali. Infatti solo con una simile disposizione sperimentale noi possiamo con sufficiente approssimazione valutare la parte che ciascun organo esercita nei fenomeni del metabolismo complessivo, e ci avviamo quindi ad una più esatta conoscenza del meccanesimo intimo, secondo cui questi fenomeni si svolgono.

Ora fra tutti gli organi il pancreas ci offre un interesse particolarissimo per essere studiato da un tal punto di vista; basta pensare che esso per la sua duplice funzione esterna ed interna ha un'importanza essenziale nel ricambio degli idrati di carbonio, di cui promuove o condiziona la digestione, l'assorbimento e il consumo da parte dei singoli tessuti.

Pure di ricerche eseguite facendo circolare nel pancreas soluzioni zuccherine, non trovo menzione nella letteratura. C'è invece tutta una fioritura di lavori, nei quali è stata studiata l'azione sopra il glicosio della polpa di pancreas sminuzzato ovvero degli estratti di quest'organo, ottenuti con la pressa di Buchner.

Blumenthal [2] per il primo notò uno svolgimento di anidride carbonica per azione di un estratto di pancreas sopra una soluzione di glicosio; e ne indusse che nell'estratto pancreatico si contengono enzimi glicolitici. Ma Umber [3] che ripetè queste ricerche, giunse a risultati affatto negativi, e considerò come dovuto ad azioni batteriche il reperto di Blumenthal. Herzog [4] invece riscontrò egli pure in analoghe condizioni sperimentali uno

(1) U. Lombroso, Rend. Accad. Lincei, questo volume pag. 390.
(2) Blumenthal, Zeitschr. f. diät. u. physiol. Therap., Bd. 2.
(3) Umber, cit. da Arnheim e Rosenbaum, Zeitschr. f. physiol. Chem. XL, pag. 221 (1903).
(4) Herzog, Hofmeister's Beiträg. z. exp. Physiol. u. Path. 2 H. S, 1-2.