

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA NAZIONALE
DEI LINCEI

ANNO CCCXIX.
1922

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXXI.

2° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
PROPRIETÀ DEL DOTT. PIO BEFANI

1922

Fisiologia. — *Contributo alla conoscenza degli enzimi.*
VIII. *Sulla ricomparsa del potere amilolitico della saliva mista umana, dopo ebollizione* ⁽¹⁾. Nota di DARIO MAESTRINI, presentata dal Corrisp. S. BAGLIONI ⁽²⁾.

Le *ossidasi* dei rafani, dopo ebollizione, presentano rigenerazione delle loro proprietà enzimatiche (Kulpsohns) ⁽³⁾; ugualmente si comporta la *Takadiastasi* di Parke-Davis (Gramenitzki) ⁽⁴⁾. Anche la saliva calcinata o bollita, riacquista, secondo Biedermann ⁽⁵⁾, restando a contatto di salda d'amido, le sue proprietà enzimatiche. Quest'ultimo autore tenta di spiegare il fenomeno, con due differenti ipotesi:

1° *rigenerazione* dell'enzima (ptialina) sotto l'influenza dei sali della saliva, in presenza di amido;

2° *attivazione* di tracce di *zimogeno*, contenute nell'amido, in presenza dei sali della saliva.

Sallinger ⁽⁶⁾ e Wohlgemuth ⁽⁷⁾ prima, Bachrach ⁽⁸⁾ e Rothlin ⁽⁹⁾ poi hanno mosse obiezioni alle esperienze di Biedermann. La più grave di queste obiezioni è che Biedermann non abbia sperimentato, rispettando tutte le regole dell'asepsi, in modo che i risultati, da lui ottenuti, dovrebbero essere riferiti ad azione batterica, piuttosto che ad azione enzimatica.

Da oltre due anni anch'io sto compiendo ricerche sulla resistenza della ptialina umana, *alla temperatura di ebollizione*.

⁽¹⁾ Lavoro eseguito nell'Istituto di Fisiologia della R. Università di Roma, diretto dal prof. S. Baglioni.

⁽²⁾ Pervenuta all'Accademia il 25 settembre 1922

⁽³⁾ Kulpsohns, Dissert. St., Petersburg, 1908.

⁽⁴⁾ Gramenitzki, *Der Einfluss verschiedener Temperaturen auf die ferment und die Regeneration fermentativer Eigenschaften* (Zeit. f. Physiol. chemie. Bd. 69, S. 286, 1910).

⁽⁵⁾ Biedermann, *Fermentforschung*, I, pp. 385-436, 1916; Idem, *Natur und Entstehung diastatischer Fermente* (Münch., Med. Woch., n. 50, 1429, 1920); Idem, *Fermentstudien VII Mitt., Die organische Komponente der Diastasen und das wahre Wesen der "Autolyse" der Stärke* (Fermentforschung, IV, 359, 1921).

⁽⁶⁾ Sallinger, *Fermentforschung*, II, 449, 1919.

⁽⁷⁾ Wohlgemuth, *Biochem. Zeitsch.*, XCIV, 213, 1919.

⁽⁸⁾ Bachrach, *Études expérimentales sur la décomposition de l'amidon en présence de salive calenée* (Comp. rend. soc. biol., t. LXXXIII, 1583, 1920).

⁽⁹⁾ Rothlin, *Natur und Entstehung diastatischer Fermente* (Münch., Med. Woch., n. 43, 1393-95, 1921).

TECNICA.

Varie furono le ricerche fatte: in una *I^a serie* la saliva mista umana, bollita a 100° C., per 10'-20', era aggiunta a salda d'amido (2.5 %) sterile, in bevute sterili, aventi toluolo; in una *II^a serie*, a lato delle suddette prove, erano fatte altre nelle stesse condizioni di asepsi, in cui la saliva era sostituita da uguale quantità di soluzione di NaCl (0.9 %) sterile; in una *III^a serie*, le miscele [saliva mista bollita con salda d'amido, o soluzione di NaCl (0.9 %) con salda d'amido], versate in *bevute*, che si chiudevano con tappi di gomma, attraversati da un tubicino di vetro capillare, erano sterilizzate con lo stesso metodo usato per sterilizzare i terreni di cultura (agar ecc., *Pentola di Koch*); in una *IV^a serie*, in cui la sterilizzazione si otteneva, come per le prime due serie ovvero come per la terza serie, a lato di *bevute* con saliva bollita o con uguale quantità di soluzione (0.9 %) di NaCl, pure bollita, erano fatte altre prove, contenenti saliva o soluzione di NaCl, bollite, e attraversate prima di aggiungere salda d'amido, da vari gas (O², CO², N).

Dopo alcuni giorni (7-20) di dimora in termostato (35°-40° C.), mediante il metodo di Lintner, da me modificato⁽¹⁾, ho determinato *nel contenuto* delle singole *bevute*, il *potere riducente* di 1 cc. di miscela, in mg. di *zuccheri riducenti*.

Nel contempo ho fatte, varie volte, *prove culturali* (in agar e brodo od agar semplicemente), *per accertarmi dell'assenza o meno di batteri*.

I risultati delle mie esperienze hanno dimostrato:

1° la salda d'amido (2.5 %) a contatto di saliva mista umana, sottoposta anche lungamente all'ebollizione, a 100° C. (anche un'ora e mezza) presenta, dopo vari giorni (7 o più giorni), una quantità di *prodotti di scissione* (zuccheri riducenti), ben titolabili cogli ordinari metodi analitici;

2° la salda d'amido (2.5 %) a contatto di soluzione di NaCl (0.9 %), sottoposta per lungo tempo all'ebollizione, a 100° C. (anche per un'ora e mezza), presenta, dopo vario tempo (7 o più giorni), prodotti di scissione (zuccheri riducenti), titolabili coi mezzi analitici ordinari, *ma in genere quantitativamente minori che nel caso della saliva bollita*;

3° la *scissione dell'amido* in entrambe le suddette condizioni sperimentali, *non è opera dei batteri, come le culture in agar e brodo hanno dimostrato*;

⁽¹⁾ D. Maestrini, *Contributo alla conoscenza degli enzimi. I. Amilasi dell'orzo germogliato*. Rend. R. Accad. Lincei, vol. XXVIII, fasc. 10^a, 1919.

4^o) la salda d'amido (2.5 %), mantenuta nelle stesse condizioni sperimentali, *senza il contatto di saliva bollita o di soluzione di NaCl* (0,9 %), anche dopo mesi, non presenta alcuna scissione, ovvero presenta appena l'accento a scissione;

5^o) l'azione dei vari gas sperimentati (CO², O², N) sulla saliva bollita, non è stata sempre la stessa per uno stesso gas: in ogni modo sembra che l'O² abbia azione più benefica che gli altri gas.

Anatomia. — *L'azione di elettroliti sui tessuti viventi, separati dall'organismo, studiata col metodo delle colture « in vitro »* ⁽¹⁾. Nota del dott. OLIVIERO OLIVO, presentata dal Corrisp. G. LEVI ⁽²⁾.

I.

Conseguenze dell'azione temporanea e permanente degli elettroliti NaCl, KCl, CaCl², NaHCO³, KJ, LiCl sui frammenti di tessuti di embrioni di pollo isolati e coltivati « in vitro ».

Scopo delle presenti ricerche fu di stabilire quali modificazioni possano essere apportate alle attività biologiche di cellule di tessuti viventi, separati dall'organismo, dal trattamento temporaneo con soluzioni, sia di elettroliti che anche normalmente concorrono a costituire i liquidi organici, ma in concentrazioni molto diverse delle usuali, sia di elettroliti estranei alla costituzione dei liquidi organici.

Tale ricerca, che fino a pochi anni or sono non sarebbe stata facilmente effettuabile, ora ci è consentita grazie al metodo delle colture « in vitro », che permette non solo di stabilire con sicurezza, se gli elementi di un tessuto sono ancora integri e vivi, ma ci mette anche in grado di seguire passo passo al microscopio le più minute e intime alterazioni che possono avvenire nella struttura e nell'attività delle cellule. Altro vantaggio considerevole del metodo delle colture sta nel fatto, che noi sperimentiamo su cellule vive, capaci di muoversi liberamente e di moltiplicarsi indefinitamente nel loro nuovo ambiente, ma sottratte a qualsiasi influenza derivante dall'organismo di cui facevano parte integrante.

⁽¹⁾ Lavoro eseguito nell'Istituto Anatomico della R. Università di Torino, diretto dal prof. G. Levi.

⁽²⁾ Pervenuta all'Accademia l'8 agosto 1922.