



ISTITUTO "CARLO FORLANINI",
CLINICA FISIOLÓGICA DELLA R. UNIVERSITÀ DI ROMA
DIRETTORE: PROF. E. MORELLI

C. CATTANEO e B. MARIANI

L'ATTIVAZIONE DEI FERMENTI PROTETTIVI

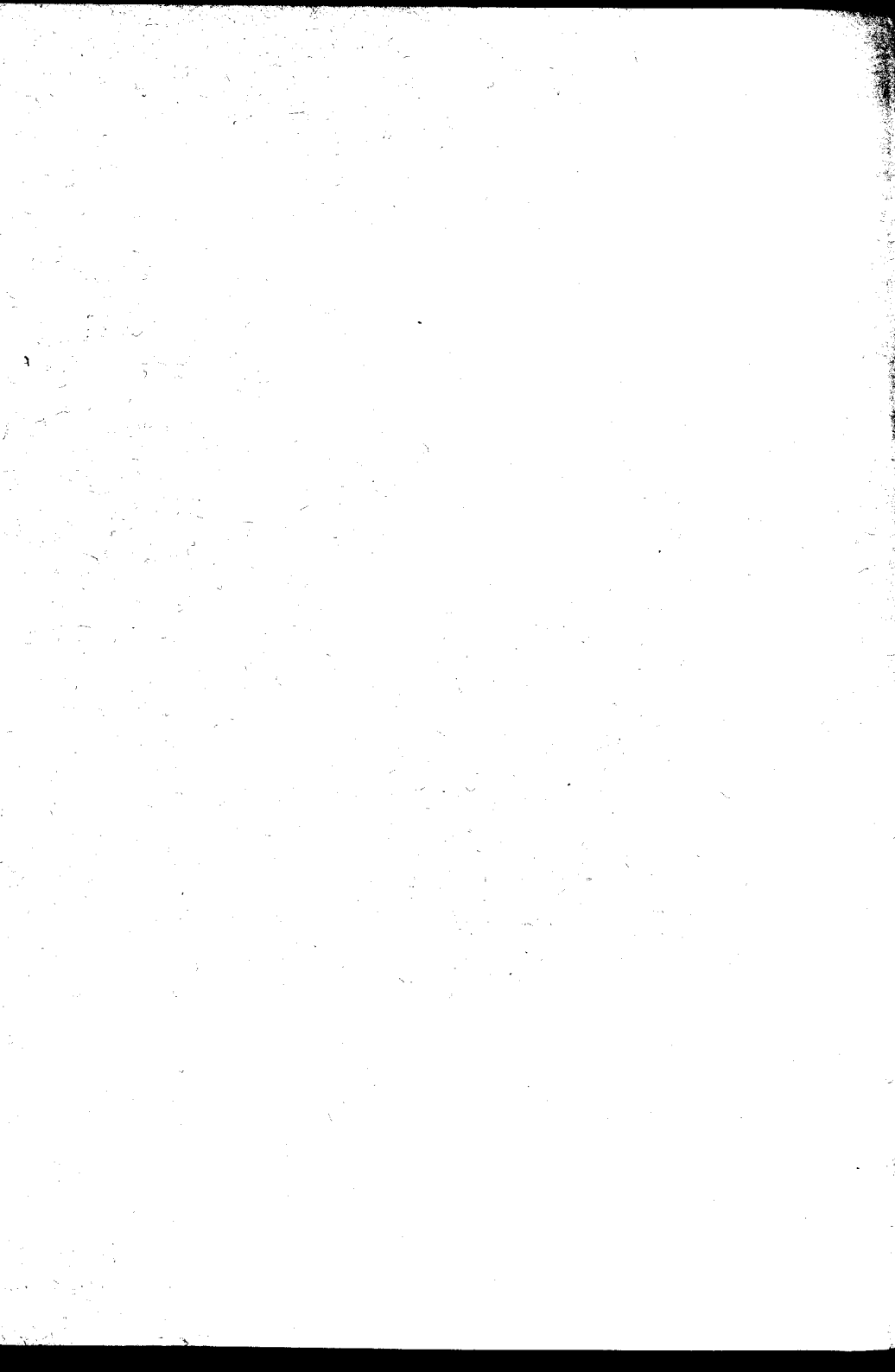
Estratto da ANNALI DELL'ISTITUTO «CARLO FORLANINI»

Anno III, N. 4, Pag. 319-324



ROMA
TIPOGRAFIA OPERAIA ROMANA
Via Emilio Morosini, 27

1939-XVII





L'ATTIVAZIONE DEI FERMENTI PROTETTIVI

II.

L'AZIONE DI SOSTANZE RIDUCENTI SUI FERMENTI PROTETTIVI NELLA TUBERCOLOSI POLMONARE UMANA

C. CATTANEO e B. MARIANI

Come abbiamo osservato in una serie di ricerche precedenti, le sostanze a carattere riducente hanno una considerevole influenza, in vivo, sull'andamento di diverse reazioni biologiche.

Infatti CATTANEO (1) somministrando acido ascorbico ed iposolfito di sodio ha potuto rendere positiva la reazione di GIBBINI-WEINBERG, già negativa, in individui sicuramente portatori di cisti da echinococco polmonare. Ancora nel campo immunologico CATTANEO e MORELLINI (2) hanno studiato la produzione sperimentale di agglutinine anticoli nei conigli, in seguito a trattamento con adrenalina, acido ascorbico ed iposolfito di sodio ed hanno osservato negli animali trattati, in confronto con quelli tenuti come controllo, un aumento nella quantità di anticorpi.

Per quanto riguarda poi le reazioni di carattere enzimatico, noi abbiamo dimostrato in un lavoro precedente (3) che con la somministrazione di acido ascorbico, di iposolfito di sodio, di cisteina, di glutatione ridotto e di adrenalina si possono attivare i fermenti protettivi nella tubercolosi polmonare umana. L'attivazione delle proteasi specifiche di ARBERHALDEN è stata da noi attribuita alla comune proprietà posseduta dalle sostanze somministrate e cioè al loro potere riducente, e per spiegare tale attivazione è stata presa in considerazione l'ipotesi dei gruppi tiolici (SH), secondo la quale i fermenti protettivi, analogamente ad altri enzimi idrolitici, sarebbero attivi soltanto nella loro forma ridotta. In continuazione di queste ricerche sull'attivazione dei fermenti protettivi nella tbc. polmonare umana, ci è parso interessante rivolgere la nostra attenzione ancora su due sostanze, che hanno in comune con le precedenti la capacità riducente e precisamente il fenolo e l'aldeide formica e che ad estensione delle sue ricerche (4), il PETRAGNANI ci ha consigliato di saggiare in dosi generose, per via endovenosa, nei malati di tbc., onde giudicare se determinassero azioni allergiche utili.

Abbiamo preso in esame 10 ammalati di tubercolosi polmonare in condizioni generali di media gravità e che non presentarono manifestazioni evolutive nel corso delle ricerche né repentine oscillazioni nelle condizioni generali per cui possiamo escludere che si siano verificate variazioni della reazione di ARBERHALDEN, dovute a modificazioni dello stato di malattia in atto, come del resto abbiamo sperimentalmente verificato nel nostro lavoro precedente.

La somministrazione delle sostanze è stata eseguita con fiale per fleboclisi preparate dall'Istituto Sersono secondo la formula del PETRAGNANI con soluzione isotonica glucosata con fenolo 1 % o formolo 0,40 %. Venivano praticate fleboclisi a giorni alterni nelle quantità crescenti di 50, 100, 200 cc. che venivano alternate con una settimana di riposo. Totalmente furono eseguite da 6 a 12 fleboclisi. Dopo ogni serie di 3 fleboclisi veniva eseguita la ricerca delle proteasi specifiche di difesa, usando come substrato polmone tubercolare e seguendo esattamente le norme tecniche, stabilite da ABDERHALDEN. Il metodo di preparazione del substrato e del preparato enzimatico (urina) e la tecnica dettagliata della reazione si trovano descritti anche nel nostro lavoro già citato (3).

I risultati ottenuti sono riportati nella tabella seguente, nella quale l'intensità della reazione, dedotta per confronto con l'esperienza di controllo, viene espressa nel modo seguente:

— = negativa; tr. = tracce; [(+)] = positiva debole; (+) = positiva media; ++ = positiva forte; +++ = positiva fortissima.

TABELLA I.

Andamento della reazione di ABDERHALDEN in ammalati di Tbc. polmonare sottoposti a trattamento con fleboclisi fenolate e formolate.

Numero	DIAGNOSI	Reazione della ninidrina				
		Prima del trattamento	Durante il trattamento			10 giorni dopo il trattamento
1	Tbc. ematogena bilat. con escavazione a S.	—	Dopo 3 fleb. fenolate —	Dopo 6 fleb. fenolate [(+)]	Dopo 9 fleb. fen. e 3 formolate [(+)]	[(+)]
2	Tbc. nodulare bilat. diffusa	—	tr.	(+)	+	—
3	Tbc. nodulare bilat. con fatti essudativi	—	—	()	[(+)]	—
4	Tbc. fibronodulare biapicale	—	Dopo 3 fleb. formol. (+)	Dopo 6 fleb. formolate ()	Dopo 12 fleb. formolate +++	++ (*)
5	Tbc. ematogena bilat. con caverne biapicali	(+)	Dopo 2 fl-b. fen. e 1 formolata (+)	Dopo altre 6 flebocl. formolate (+)	Dopo altre 3 fleb. formolate (+)	(+)
6	Tbc. nodulare lobo sup. S. con tendenza alla confluenza	—	Dopo 3 flebocl. formolate [(+)]	Dopo 6 flebocl. formolate [(+)]	Dopo 9 flebocl. formolate [(+)]	—
7	Tbc. nodulare confluyente apicale	—	—	[(+)]	[(+)]	—
8	Tbc. fibro-ulcerativa bilaterale	tr.	[()]	[(+)]	—	—
9	Tbc. fibro-ulcerativa bilaterale	—	[(+)]	[(+)]	—	—
10	Tbc. fibro-ulcerativa bilaterale	—	—	—	—	—

(*) Dopo 23 giorni la reazione di ABDERHALDEN risultò ancora positiva (+).

Come risulta dalla tabella, la somministrazione di soluzioni di fenolo e di aldeide formica ad ammalati di tubercolosi polmonare, determina una attivazione dei fermenti protettivi, come dimostra la maggiore positività, osservata nella reazione con ninidrina. L'attivazione ottenuta in queste condizioni è stata talvolta notevolissima e persistente (vedi i casi n. 1 e 4).

Poichè il fenolo ed il formolo sono stati iniettati sotto forma di fleboclisi glucosata, abbiamo eseguito la reazione di ABDERHALDEN in alcuni ammalati trattati con soluzione glucosata semplice, per poter stabilire l'influenza di questa soluzione, adoperata come veicolo, sui fermenti protettivi. Come dimostra la tabella n. 2 i risultati ottenuti in queste esperienze sono stati completamente negativi.

TABELLA II.

Andamento della reazione di ABDERHALDEN in ammalati di Tbc. polmonare durante il trattamento con fleboclisi glucosate (100 cc. di soluzione glucosata isotonica ogni fleboclisi, a giorni alterni, intercalando una settimana di riposo).

Numero	DIAGNOSI	Reazione della ninidrina		
		Prima del trattamento	Dopo il trattamento	
1	Tbc. fibro-ulcerativa bilaterale	I (+)	Dopo 3 fleb. I (+)	Dopo 6 fleb. I (+)
2	Tbc. fibro-ulcerativa bilaterale		I (+)	I (-)

Infine per poter eventualmente chiarire meglio il meccanismo di azione delle due sostanze riducenti prese in esame, abbiamo eseguito delle esperienze in vitro, aggiungendo il fenolo ed il formolo sia direttamente all'urina, sia al sedimento (preparato enzimatico), ottenuto per precipitazione con acetone. I risultati di queste reazioni, divisi in due serie a seconda della quantità di sostanza adoperata, sono riportati nella tabella n. 3.

TABELLA III.

Reazione di ABDERHALDEN nelle esperienze eseguite in vitro su urine di ammalati di Tbc. polmonare

Numero	Senza alcun trattamento	Con l'aggiunta di fenolo		Con l'aggiunta di formolo	
		all'urina	al sedimento	all'urina	al sedimento
1	---	20 mgr. ---	20 mgr. ---	8 mgr. ---	8 mgr. ---
2	I (+)	20 mgr. I (+)	20 mgr. (+)	---	---
3	---	---	---	20 mgr. ---	20 mgr. ---

Nell'esperienza n. 1 sono stati aggiunti 20 mgr. di fenolo e 8 mgr. di aldeide formica tanto a 20 cc. di urina (quantità adoperata nella preparazione del preparato enzimatico), quanto al preparato enzimatico stesso; per tale quan-

tità che corrisponde alla dose di fenolo e di formolo introdotta con 100 cc. di soluzione e che verosimilmente potrebbe trovarsi nelle urine durante il trattamento, i risultati della reazione di ABDERHALDEN sono stati negativi. Nelle esperienze n. 2 e 3, eseguite con una quantità di fenolo e di formolo 10 volte superiore, si è avuta una reazione positiva nel caso del fenolo aggiunto al sedimento; ma la quantità di fenolo adoperata in questa esperienza è certamente superiore a quella che nelle nostre condizioni di esperimento avrebbe potuto essere eliminata per via renale.

L'acido fenico e l'aldeide formica quindi, analogamente alle altre sostanze riducenti precedentemente studiate, determinano in vivo un'attivazione dei fermenti protettivi nella tubercolosi polmonare umana. Tale attivazione, come abbiamo detto nella prima nota su questo argomento, si può spiegare con l'ipotesi che i fermenti protettivi, analogamente ad altri idrolitici, siano attivi soltanto nella loro forma ridotta (Enzima—SH); le sostanze dotate di proprietà riducenti permetterebbero perciò l'esistenza dell'enzima nella sua forma attiva.

Le ricerche analoghe alle presenti, eseguite nel campo immunologico, ci portano però ad ammettere che le sostanze riducenti non solo siano capaci di determinare delle condizioni ottimali di ambiente per l'esplicazione della attività dei fermenti protettivi, ma che esse abbiano azione anche sulle cause che concorrono alla loro produzione. Infatti per quanto riguarda la formazione degli anticorpi specifici devianti il complemento nella reazione di GHEIDINI-WEINBERG e quella sperimentale delle agglutinine anticorpi, in presenza di sostanze a carattere riducente, noi abbiamo ammesso come ipotesi più probabile la possibilità che le sostanze somministrate determinassero una maggior messa in circolo di anticorpi, tenendo conto dei rapporti che intercorrono tra le sostanze riducenti ed il sistema reticolo-endoteliale, che, come è noto, ha importanza fondamentale nel meccanismo di produzione degli anticorpi.

Nel caso dei fermenti protettivi, il problema della loro genesi, già impostato da ABDERHALDEN (5) non ha ancora portato a risultati positivi. Alla luce delle moderne teorie sulla costituzione chimica degli enzimi, ABDERHALDEN pensa inoltre che il substrato iniettato o comunque comparso in circolo, assuma le funzioni di supporto (feron), che mobilizzando nell'organismo un gruppo attivo (agon) verrebbe a formare le proteasi specifiche (simplex). Se questa teoria dualistica, dimostrata esatta per alcuni enzimi, dovesse valere anche per le proteasi di ABDERHALDEN, si potrebbe pensare che le sostanze riducenti facilitassero la mobilizzazione dell'agon, portando così in definitiva ad un aumento nella produzione del simplex, in certo modo analogamente a quanto è stato ammesso nelle nostre ricerche di carattere immunologico.

Perciò il fenolo ed il formolo, ed in genere le sostanze riducenti, agirebbero sulle proteasi specifiche di ABDERHALDEN con un doppio meccanismo di azione: esse determinerebbero cioè le condizioni optimum per l'esplicazione dell'attività enzimatica in rapporto con l'influenza che esse hanno, agendo probabilmente come tamponi di ossido-riduzione, sul potenziale ossido-riduttivo cellulare, e porterebbero inoltre ad un aumento nella quantità di enzima presente in circolo.

Per il significato fisiologico che hanno le proteasi specifiche di ABDERHALDEN, il fenolo ed il formolo, generosamente introdotti per fleboclisi, come il PETRAGNANI ci ha consigliato l'uso ad estensione di altre proprietà terapeutiche ricercate, possono trovare applicazione in una terapia di carattere generale della tubercolosi per il loro potere disintossicante anche in conseguenza della capacità che queste sostanze hanno, come abbiamo dimostrato nella

presente nota, di attivare i fermenti protettivi nella tubercolosi polmonare umana.

RIASSUNTO

In continuazione di ricerche precedenti sui fermenti protettivi nella tubercolosi polmonare umana, è stata studiata l'azione del fenolo e del formolo, generosamente introdotti per fleboclisi glucosata secondo PETRAGNANI. Come l'iposolfito di sodio, l'acido ascorbico, la cisteina, etc., queste costanze esaltano la reazione di ABDERHALDEN ed i risultati delle ricerche sono stati interpretati, come precedentemente, in relazione alla capacità riducente delle sostanze somministrate.

RÉSUMÉ

Faisant suite a des recherches précédentes sur les ferments protecteurs dans la tuberculose humaine, les Auteurs ont étudié l'action du phénol et du formol, généreusement introduits par phléboclyse glucosée selon la méthode de PETRAGNANI. De même que l'hyposulphite de soude, l'acide ascorbique, la cisteine, etc. ces substances exaltent la réaction d'ABDERHALDEN et les résultats des recherches ont été interprétés, comme précédemment, en relation avec le pouvoir reducteur des substances administrées.

ZUSAMMENFASSUNG

Zur Ergänzung vorheriger Untersuchungen über die protektiven Gährungsstoffe bei menschlicher Lungentuberkulose, wurde die Wirkung des, reichlich durch glykosierte Phlébolyse nach PETRAGNANI, eingeführten Phenols und Phormols untersucht. So wie das Natriumhyposulfit, die Askorbinsäure, das Zystin etc., erhöhen auch diese Substanzen die ABDERHALDEN'sche Reaktion und die Untersuchungsergebnisse wurden, bezüglich der Verminderungsfähigkeit der verabreichten Substanzen, so gedeutet als jene der vorherigen Untersuchungen.

SUMMARY

In continuation of the preceding researches regarding protective ferments in human pulmonary tuberculosis, the action of phenol and formaldehyde generously introduced by glucosed phleboclyse, after PETRAGNANI, has been studied. Like hyposulphite of sodium, ascorbic acid, cysteine etc., these substances increase the ABDERHALDEN reaction and the results of the researches have been interpreted, as before, in relation to the reducing capacity of the substances administered.

RESUMEN

Continuando las investigaciones precedentes sobre los fermentos protectores en la tuberculosis pulmonar humana, los AA. han estudiado la acción del fenol y del formol generosamente introducidos por el metodo de la fleboclisis glucosada de PETRAGNANI. Como el hiposulfito de sodio, el ácido ascórbico, la cisteina etc., estas substancias exaltan la reacción de ABDERHALDEN y los resultados de las investigaciones han sido interpretados como precedentemente, en relación a la capacidad reductora de las substancias suministradas.

BIBLIOGRAFIA

- (1) C. CATTANEO. — Ann. Ist. Forlanini, 1938, 2, 332.
- (2) C. CATTANEO e M. MORELLINI. — Boll. Ist. Sier. Milanese 1938 (in corso di stampa).
- (3) C. CATTANEO e B. MARIANI. — Arch. Sci. Biol. 1938, 24, 193.
- (4) G. PETRAGNANI. — Atti Accad. Fisiocr. Siena, 1935 febbraio.
- (5) E. ABDERHALDEN. — Ergebn. Enzymforsch. 1937, 6, 197.

58782



