

19. Raffaele ANGELICO e Maria GALAMINI LIGORI. — **Funzione pancreatica**
Nota III. — Assorbimento intestinale di lipidi dopo trattamento
allossanico.

Riassunto. — Gli AA. riferiscono su ricerche sull'assorbimento lipidico dopo trattamento allossanico nel coniglio. Dalle prove eseguite risulta che il trattamento con allossana non modifica la capacità di assorbimento del grasso alimentare.

Résumé. — La capacité d'absorption de la graisse alimentaire n'est modifiée, chez le lapin, ni par l'exclusion de la sécrétion pancréatique externe, obtenue par la résection du canal de Wirsung, ni par la destruction des cellules β des îles de Langerhans, obtenue par l'administration d'alloxane.

Comme on sait déjà qu'une profonde perturbation de cette capacité d'absorption lipidique se produit à la suite de l'ablation totale du pancréas chez le chien, il faudra en conclure qu'il existe un facteur pancréatique resté non endommagé dans l'un et dans l'autre traitement — la résection dudit canal et l'administration d'alloxane, — ce facteur intervenant dans le métabolisme lipidique et dans la fonction d'absorption de la graisse alimentaire.

Summary. — The ability to absorb alimentary fats is not modified in the rabbit either by the exclusion of the external pancreatic secretion, obtained through excision of the duct of Wirsung, or by the destruction of the β -cells of Langerhans' islets, obtained through administration of alloxan.

It being already known that a serious disturbance of the power of lipide absorption is caused in the dog as a consequence of total pancreas ablation, it must be concluded that a pancreatic factor exists, remained undamaged in both treatments — excision of the duct and administration of alloxan, — this factor intervening in lipide metabolism and in the fonction of absorption of the alimentary fat.

Zusammenfassung. — Beim Kaninchen wird die Absorptionsfähigkeit für Nahrungsfett weder durch den Ausschluss der äusseren Pankreassekretion, mittels Abschneidung des Wirsungductus, noch durch die Vernichtung der Zellen der Langerhansinseln mittels Alloxaneingabe verändert.

Da die tiefgehende Störung der Fettabsorbierungsfähigkeit durch totale Entfernung des Pankreas beim Hunde bekannt ist, muss man zum

Schluss kommen, dass ein pankreatischer Faktor existiert, welcher bei beiden Behandlungen, Abschneidung des Ductus sokie alloxaneingabe, unbeschädigt geblieben ist und beim Lipoide-Metabolismus sowie bei der Fettabsorption mitwirkt.

In una precedente ricerca sull'assorbimento dei grassi alimentari in rapporto con la funzione pancreatica (1) abbiamo osservato che la secrezione esterna del pancreas non costituisce per il coniglio un elemento assolutamente indispensabile per l'assorbimento dei grassi, potendo questo animale assorbire una notevole quantità di grasso (olio di olivo) anche dopo recisione del dotto di Wirsung. Le esperienze furono eseguite abituando progressivamente gli animali all'ingestione del grasso. Il periodo preparatorio consisteva nella somministrazione di 2 cc. di olio di olivo per 2 giorni, di 3 cc. per altri 2 giorni, di 4 cc. per altri 2 giorni ancora, di 5 cc. per 6 giorni ed infine di 6 cc. per altri 6 giorni. Quest'ultimo periodo veniva utilizzato per le prime prove di assorbimento. Si procedeva allora all'intervento operatorio e quindi ad un nuovo periodo di somministrazione del grasso durante il quale venivano determinate le successive percentuali di assorbimento. Rimandando al lavoro originale per la tecnica delle determinazioni e per i singoli dati, riportiamo qui soltanto i dati concernenti le percentuali di assorbimento:

CONIGLIO	ASSORBIMENTO LIPIDICO prima della recisione del dotto	ASSORBIMENTO LIPIDICO dopo la recisione del dotto
179	80,36%	80,66% (valore medio su 10 dosaggi)
228	84,99% (valore medio su 3 dosaggi)	86,14% (valore medio su 8 dosaggi)
230	82,02% (valore medio su 3 dosaggi)	81,32% (valore medio su 8 dosaggi)
259	88,65%	84,55% (valore medio su 4 dosaggi)
278	92,04%	82,37% (valore medio su 4 dosaggi)
223	80,62%	85,83%
263	86,42%	86,07%
264	88,96%	86,24% (valore medio su 2 dosaggi)
277	90,69%	83,91% (valore medio su 2 dosaggi)

Dall'esame della surriportata tabella appare evidente come nessuna modificazione sia avvenuta nell'assorbimento intestinale dei grassi alimentari in seguito alla esclusione della secrezione pancreatica esterna.

Allo scopo di conoscere l'eventuale partecipazione del pancreas endocrino al fenomeno dell'assorbimento del grasso alimentare istituimmo una seconda serie di ricerche, riportate nello stesso lavoro (1), tendenti a sta-

bilire se tale assorbimento venisse modificato dal trattamento con allossana, sostanza capace di distruggere elettivamente le cellule β delle isole di Langerhans. I dati relativi alle modificazioni del tasso glicemico prodotte dall'introduzione dell'allossana sono riportati in esteso nelle tabelle accluse al lavoro citato. Non ci fu però possibile determinare i valori di assorbimento del grasso alimentare dopo l'introduzione dell'allossana, giacchè questa sostanza, somministrata per via endovenosa nelle dosi diabetogene tollerate da conigli ad alimentazione normale (mg. 200 pro Kg. di peso dell'animale), oltre ad esplicare la sua azione specifica, si dimostrò tossica, fino a provocare la morte, nei conigli alimentati con dieta ricca di grassi. Gli animali manifestarono subito sintomi tossici, rifiutarono il cibo e morirono rapidamente.

Tale inatteso fenomeno meritava un più approfondito accertamento. In successive ricerche (2) potemmo confermare, in confronto con animali alimentati normalmente, i fatti osservati, mettendoci nelle stesse condizioni sperimentali della ricerca precedente. Gli animali furono progressivamente abituati all'ingestione di quantità crescenti di olio d'olivo e quindi sottoposti all'azione dell'allossana. Allo scopo di cogliere le varie fasi del diabete allossanico il tasso glicemico fu determinato dopo 15' e 90' dalla iniezione di allossana, quindi dopo 5, 24, 48 ore. In seguito furono praticati altri dosaggi, quasi giornalmente, per tutto il periodo in cui gli animali rimasero in vita. I dati relativi sono riportati ampiamente nello stesso lavoro. Fu così possibile notare la caratteristica azione dell'allossana, costituita da una fase iperglicemica iniziale, cui segue una fase ipoglicemica e quindi lo stabilizzarsi dello stato diabetico.

Gli animali pretrattati con grasso mostrarono alla somministrazione dell'allossana disturbi a carico del sistema nervoso, che andavano da un lieve inceppamento nella locomozione alla paralisi totale del treno posteriore o addirittura alla tetraplegia. Tali fenomeni, sul cui determinismo non abbiamo ancora elementi di giudizio, verificatisi in 13 su 18 animali, si manifestarono subito o nel corso delle 24 ore successive alla somministrazione dell'allossana. Tutti gli animali iperalimentati con grasso (da un minimo di 8 giorni a un massimo di 36 giorni) e quindi sottoposti all'azione dell'allossana morirono entro 10 giorni dal trattamento allossanico, anzi la maggior parte decedettero entro il 5° giorno, ad eccezione di due, che raggiunsero rispettivamente il 18° e il 19° giorno.

A causa di questi fenomeni non fu possibile nella maggior parte degli animali procedere allo studio dell'assorbimento del grasso alimentare dopo il trattamento con allossana. Soltanto in pochi di essi, facenti parte dei gruppi per un periodo più breve sottoposti alla alimentazione iperlipidica e rimasti più a lungo in vita e in buone condizioni, fu possibile determinare le

percentuali di assorbimento del grasso introdotto, in confronto con i valori ottenuti prima del trattamento con allossana.

Questi risultati, allora non pubblicati, formano l'oggetto della presente nota ed eccoli in sintesi:

CONIGLIO	ASSORBIMENTO LIPIDICO		ALLOSSANA al giorno di grasso	ASSORBIMENTO LIPIDICO	
		giorni			giorni
682	31,07 %	5 ^o - 7 ^o	8 ^o	63,89 %	9 ^o - 14 ^o
688	40,80 %	5 ^o - 7 ^o	8 ^o	95,51 %	10 ^o - 12 ^o
449	34,50 %	7 ^o - 12 ^o	14 ^o	77,75 %	15 ^o - 20 ^o
685	53,68 %	7 ^o - 12 ^o	14 ^o	72,10 %	16 ^o - 18 ^o
690	41,53 %	7 ^o - 12 ^o	14 ^o	70,24 %	16 ^o - 21 ^o
454	63,68 %	19 ^o - 24 ^o	31 ^o	76,44 %	38 ^o - 43 ^o

All'esame superficiale dei dati surriportati sembrerebbe che la capacità di assorbimento intestinale del grasso alimentare avesse ricevuto dal trattamento allossanico un incremento in qualche caso anche notevole. Ma bisogna riferirsi alle condizioni in cui si è svolto l'esperimento per riportare le cose al loro giusto valore. Come abbiamo già detto gli animali presi in considerazione sono fra quelli ai quali, ad eccezione di uno, l'alimentazione iperlipidica fu praticata, prima del trattamento allossanico, per un periodo breve e cioè dagli 8 ai 14 giorni. La surricordata azione tossica dell'allossana si esplicò in essi meno violentemente che non negli animali trattati con grasso per un periodo più lungo: i conigli rimasero per alcuni giorni in vita e fu così possibile riprendere, dopo l'allossana, l'alimentazione iperlipidica.

Ciò spiega l'anticipazione ai primissimi giorni di esperimento delle prime prove di assorbimento e l'accorciamento a 3 giorni da 6 del periodo di prova. Come spiegare dunque l'incremento nei valori di assorbimento?

Bisognerà ricordare quali siano le condizioni sperimentali nelle quali abbiamo voluto metterci nelle presenti e nelle precedenti ricerche e quale ne fosse l'intendimento. Volendo studiare la capacità di assorbimento del grasso alimentare abbiamo pensato che fosse cosa utile abituare gradatamente i conigli all'ingestione dell'olio di olivo in aggiunta all'alimentazione normale, trattandoli, come abbiamo detto, con quantità giornaliere crescenti 2-3-4-5-6 cc. Soltanto dopo questo periodo di adattamento abbiamo proceduto alla recisione del dotto di Wirsung nella prima ricerca o al trattamento allossanico nella seconda. Ma naturalmente, volendo determinare il minimo di durata di alimentazione lipidica capace di rendere il coniglio più sensibile all'azione tossica, già descritta, dell'allossana, siamo stati costretti ad anticipare via via il momento delle prime prove di assorbimento fino a

giungere, come negli animali qui presentati — gli unici rimasti per qualche giorno in vita dopo il trattamento all'ossanico — addirittura ai primissimi giorni di esperimento.

Indubbiamente una assidua somministrazione di olio di olivo al coniglio costituisce una deviazione dal normale tipo di alimentazione di questo animale. Era quindi prevedibile che ad un assorbimento piuttosto scarso dei primi periodi dovesse succedere per fenomeni di adattamento una maggiore capacità di assorbimento. Questo fatto, che non tenuto presente poteva falsare il giudizio sui risultati ottenuti, abbiamo potuto confermare in numerose prove di controllo. Riportiamo qui i dati ottenuti in 10 conigli ai quali abbiamo soltanto somministrato gradatamente olio di olivo e nei quali abbiamo praticato ripetute prove di assorbimento a cominciare addirittura dai primissimi giorni di esperimento:

CONIGLIO	I	II	III	IV	V
	giorni 1' - 6'	giorni 7 - 12'	giorni 13 - 18'	giorni 19 - 24'	giorni 25' - 30'
756	34,77	69,51	87,68	86,07	87,11 o/o
757	60,24	46,09	77,62	71,06	78,51 o/o
758	29,78	65,57	77,14	76,53	94,83 o/o
759	51,69	29,90	82,51	75,01	81,58 o/o
760	33,31	66,01	76,86	87,23	93,67 o/o
761	45,10	55,98	81,70	94,55	80,06 o/o
762	76,94	68,19	85,71	93,76	95,19 o/o
763	73,00	73,15	84,40	89,33	95,22 o/o
764	58,29	51,64	56,04	87,11	81,51 o/o
765	49,85	69,29	84,44	79,08	88,72 o/o

Come si vede nella tabella, le percentuali di assorbimento del grasso alimentare, sia pure con variazioni individuali, vanno gradatamente elevandosi col progredire delle prove. Nel primo periodo di 6 giorni registriamo dei minimi all'incirca sul 30% per giungere in alcuni animali nelle ultime prove fra il 25° e il 31° giorno a dei massimi di quasi totale assorbimento (95% circa).

Alla luce di questi dati riscontrati in animali normali abituati gradatamente all'ingestione di olio di olivo vediamo di interpretare quelli forniti dagli animali a dieta iperlipidica sottoposti alla azione dell'allossana.

I valori delle prove eseguite prima del trattamento con l'allossana risultano su per giù uguali ai corrispondenti valori ottenuti negli animali di controllo all'uguale periodo di prova. I primi due conigli infatti — 682, 688 — in cui la prima prova di assorbimento fu eseguita nei primi giorni di alimentazione iperlipidica, assorbono meno dei secondi tre — 449, 685, 690 — e dell'ultimo — 154 — in cui tale prova fu eseguita più tardi.

Parallelamente i valori percentuali ottenuti dopo la somministrazione dell'allossana risultano su per giù uguali ai corrispondenti risultati ottenuti negli animali di controllo all'uguale periodo di prova.

Tenuto allora conto del progressivo aumento della capacità di assorbimento del grasso, aumento consecutivo alla graduale abitudine all'ingestione dell'olio di olivo, possiamo concludere rilevando dai nostri esperimenti che il trattamento con allossana non modifica la capacità di assorbimento del grasso alimentare. Questo fenomeno ci sembra di particolare importanza specialmente se considerato unitamente ai fatti riscontrati dopo la recisione del dotto di Wirsung.

Antiche ricerche avevano dimostrato che in seguito all'estirpazione totale del pancreas nel cane l'eliminazione fecale di grasso corrisponde in peso alla quantità introdotta con l'alimentazione. Tale fatto fu attribuito in un primo tempo alla mancanza del secreto pancreatico esterno. Ma la presenza nell'organismo di un piccolo segmento di pancreas era capace di impedire questa profonda alterazione dell'assorbimento dei lipidi. U. LOMBROSO (3) con ricerche condotte dal 1902 al 1906, poté dimostrare che il pancreas esplica una funzione interna che domina il ricambio intermedio dei grassi ed agisce sul loro assorbimento anche indipendentemente dall'azione dell'enzima lipasico nel lume intestinale. Si vide in seguito che le alterazioni dovute alla mancanza di un principio agente sul metabolismo lipidico non vengono eliminate dalla introduzione dell'insulina, agente invece sul metabolismo degli idrati di carbonio.

Alla constatazione che l'esclusione della secrezione pancreatica esterna — da noi ottenuta nel coniglio sottoposto ad un graduale adattamento alla dieta iperlipidica e quindi alla recisione del dotto di Wirsung — non modifica l'assorbimento intestinale del grasso alimentare si aggiunge quella che nessuna alterazione dell'assorbimento si verifica dopo il trattamento con l'allossana.

Le presenti ricerche dunque costituiscono una conferma alle già citate ricerche di U. LOMBROSO del periodo 1902-1906, a quelle più recenti di questo A. del 1937-1938 sull'ansa alla Vella (3) e a quelle condotte con la nostra collaborazione in questo Istituto nel 1945 sia sull'assorbimento lipidico che sulla infiltrazione adiposa del fegato (4-5).

E coincidono con i concetti espressi dalla Scuola Americana di DRAGSTED e coll. (6-7), i quali osservarono l'azione sul metabolismo dei lipidi di estratti di pancreas, purificati da ogni contenuto in colina, e dalla cui successiva purificazione ottennero il cosiddetto « Lipocaic » da DRAGSTEDT considerato l'ormone pancreatico che domina il metabolismo intermedio dei lipidi.

Tenendo allora presenti i seguenti tre fatti:

1) che l'asportazione totale del pancreas nel cane turba profondamente il metabolismo dei lipidi e abolisce la capacità di assorbimento intestinale dei grassi;

2) che l'effetto diabetogeno dell'allossana è dovuto, come ormai è accertato da numerose documentazioni istologiche, alla lesione delle cellule β delle isole di Langerhans, cellule alle quali sarebbe devoluta la produzione dell'insulina;

3) che la recisione del dotto di Wirsung porta, nel coniglio, alla esclusione in un primo tempo dal lume intestinale del secreto pancreatico esterno e quindi alla progressiva involuzione fino alla atrofia completa del tessuto acinoso,

si dovrà concludere che, non osservandosi sia con il trattamento allossanico che con la recisione del dotto nessuna alterazione della capacità di assorbimento dei grassi, che si ha invece con la completa ablazione del pancreas, questa capacità sarà dovuta all'azione di un terzo fattore pancreatico — nè l'insulina, nè la lipasi — prodotto da elementi cellulari, che conservano in ambedue i trattamenti la loro integrità anatomica e funzionale.

Questi elementi cellulari potrebbero essere rappresentati dalle cellule α delle stesse isole di Langerhans, che, a differenza delle cellule β , come è stato dimostrato in numerose ricerche istologiche (vedi Verne (8)) rimangono indenni in seguito al trattamento allossanico. E una conferma del loro stato di integrità funzionale viene fornita dalle ricerche di parecchi Aa., fra i quali citiamo SILIPRANDI e RINDI (9), i quali hanno dimostrato che nel fegato dei ratti diabetici per allossana non si verifica alcun aumento dei lipidi rispetto al fegato dei ratti normali. Questo fatto abbiamo noi stessi potuto confermare nel coniglio (vedi nota precedente) nel quale dopo trattamento allossanico non abbiamo osservato la presenza di una vera e propria steatosi epatica (lipidi totali del fegato dal 2,79 al 4,79%).

Roma, Istituto Superiore di Sanità, Laboratorio di Biologia 24 Giugno 1949.

BIBLIOGRAFIA

- (1) *Questi Rendiconti* - 11, 865, 1948.
- (2) *Questi Rendiconti* - 11, 1248, 1948.
- (3) Per una completa bibliografia sulle ricerche di U. Lombroso, vedi *Questi Rendiconti* - 8, 553, 1945.
- (4) *Questi Rendiconti* - 8, 564, 1945.
- (5) *Questi Rendiconti* - 8, 572, 1945.
- (6) *Amer. J. Physiol.* - 117, 175, 1936.
- (7) *Amer. J. Physiol.* - 144, 620, 1945.
- (8) *Presse Medicale* - 36, 509, 1946.
- (9) *Boll. Soc. It. Biol. Sper.* - 22, 1169, 1946.