

N.º 173

FACULDADE DE MEDICINA DO PÔRTO
LABORATÓRIO DE QUÍMICA BIOLÓGICA

AMONIÚRIA E AMINÒ-ACIDÚRIA

POR

ELÍSIO MILHEIRO

OUTUBRO DE 1923

202/5 FMP

EMPR. INDUST. GRÁF. DO PÔRTO, L. da
178, R. MÁRTIRES DA LIBERDADE, 178

AMONIÚRIA E
AMINÒ-ACIDÚRIA

FACULDADE DE MEDICINA DO PÔRTO
LABORATÓRIO DE QUÍMICA BIOLÓGICA

AMONIÚRIA E AMINÔ-ACIDÚRIA

SEUS VALORES NO ESTADO NORMAL
E EM ALGUNS ESTADOS PATOLÓGICOS

TESE DE DOUTORAMENTO APRESENTADA
À FACULDADE DE MEDICINA DO PÔRTO

POR

ELÍSIO FILINTO MILHEIRO FERNANDES

Segundo assistente de Fisiologia
e Química Fisiológica

OUTUBRO DE 1923

EMPR. INDUST. GRÁF. DO PÔRTO, L.^{da}
178, R. MÁRTIRES DA LIBERDADE, 178

Faculdade de Medicina do Pôrto

DIRECTOR

Dr. João Lopes da Silva Martins Júnior

SECRETÁRIO

Dr. António de Almeida Garrett

CORPO DOCENTE

Professores Ordinários

Anatomia descritiva. . .	Dr. Joaquim Alberto Pires de Lima
Histologia e Embriologia.	Dr. Abel de Lima Salazar
Fisiologia geral e especial	Vaga
Farmacologia.	Vaga
Patologia geral	Dr. Alberto Pereira Pinto de Aguiar
Anatomia patológica . . .	Dr. António Joaquim de Souza Júnior
Bacteriologia e Parasitologia.	Dr. Carlos Faria Moreira Ramalhão
Higiene	Dr. João Lopes da Silva Martins Júnior
Medicina legal	Dr. Manuel Lourenço Gomes
Anatomia topográfica e Medicina operatória .	Vaga
Patologia cirúrgica. . . .	Dr. Carlos Alberto de Lima
Clínica cirúrgica.	Dr. Álvaro Teixeira Bastos
Patologia médica	Dr. Alfredo da Rocha Pereira
Clínica médica	Dr. Tiago Augusto de Almeida
Terapêutica geral	Dr. José Alfredo Mendes de Magalhães
Clínica obstétrica	Vaga
História da medicina e Deontologia	Vaga
Dermatologia e Sifilografia.	Dr. Luís de Freitas Viegas
Psiquiatria.	Dr. António de Souza Magalhães e Lemos
Pediatria	Dr. António de Almeida Garrett

Professores Jubilados

Dr. Pedro Augusto Dias

Dr. Augusto Henriques de Almeida Brandão

A Faculdade não responde pelas doutrinas expendidas na dissertação.

Art. 15.º § 2.º do *Regulamento Privativo da Faculdade de Medicina do Pôrto, de 3 de Janeiro de 1920.*

A memória de Francisco Assis de Sousa Vaz, do Conselho de Sua Magestade, Comendador das Ordens de Nosso Senhor Jesus Cristo e de S. Maurício e S. Lázaro, doutor em Medicina, lente jubulado e director da Escola Médico-Cirúrgica do Pôrto, nascido em 7 de Agosto de 1797 e falecido em 6 de Abril de 1870, o qual, havendo projectado deixar um legado à dita Escola para o seu rendimento ser applicado ao aperfeiçoamento e derramamento dos conhecimentos médicos bem como a subsidiar alguns alunos necessitados, e não podendo realizar tão útil pensamento, foi êste interpretado por sua irmã e herdeira D. Rita Assis de Sousa Vaz, legando à mesma Escola e para o fim indicado sessenta inscrições da dívida pública nacional do valor nominal de 1:000\$000 reis cada uma.

Em testemunho de gratidão

O. D. C.

O aluno pensionário

Elísio Filinto Milheiro Fernandes.

A TODOS OS MEUS

A MEU TIO

ALBERTO MILHEIRO

GRATIDÃO.

Derrière certains mots, se trouve
un monde d'idées que ces mots ne
sauraient atteindre.

Gustave Le Bon - «Aphorismes».

AOS MEUS PRESADOS AMIGOS

Ex.^{mos} SENHORES

D. MARIA CLARA REBELO VALENTE
ALFREDO REBELO VALENTE

A TODOS OS MEUS AMIGOS

AO EX.^{mo} SENHOR

PROFESSOR ALBERTO DE AGUIAR

...bem posso escusar trazer escrito
Em papel o que na alma estar devia.

Camões – «Lusiadas», canto 1.º,
est. 66.

Discur de bons mots, mauvais ca-
ractère.

Pascal – «Pensées».

AOS MEUS CONDISCÍPULOS

ESTA página é para vós, que me proporcionastes os momentos mais felizes da minha vida.

Ao transpôr a última porta que me separa da vida de estudante, não posso conter-me que não olhe para trás a contemplar por mais uma vez êsse grupo de rapazes estouvados que ainda é recordado na Faculdade como exemplo de alegria e de bom humor.

Na verdade, no nosso curso nada faltava para encontrarmos facilmente um pretexto que nos conservasse em franca e ruidosa alegria. De tudo tínhamos; desde as célebres barbas que provocaram a reunião extraordinária dum *congresso de profilaxia*, ao não menos célebre *capachinho* que pôs de cara à banda um cabeleireiro de Santo Tirso; desde os *substanciais* discursos em *vernáculo*, que deixariam a perder de vista os do Padre António Vieira, até às *conceituosas*

arengas em *latim*, que fariam morrer de inveja o próprio Cícero; desde os concertos de canto com maravilhosos trinados de garganta provocados exteriormente pela mão, até às danças *clássicas* acompanhadas de tais movimentos de perna que abalariam a fama da mais desenvolta das bailarinas espanholas.

*

Ao recordar todas essas coisas, tendo ao mesmo tempo o coração oprimido pela saudade e a alma dilatada pelo entusiasmo, rio-me com tristeza, choro com alegria.

Mas não é a saudade egoísta que me recorda os momentos que passamos em alegre convívio. Não é a mesquinha tristeza de ver passado um momento de

prazer que me traz à memória êsse tempo alegre que já não volta. Não.

Colhido de surpresa pelo Destino, que atirou com o leme da família para o meu pulso ainda inexperiente, e obrigado a procurar no trabalho os recursos de que necessitava para levar cada um ao termo da viagem que tinha traçado, recordo ainda que ao vosso alegre convívio, à nossa franca e leal camaradagem devo em grande parte a coragem com que afrontei os momentos mais ásperos da minha vida.

Por isso êsse rapaz, que vos parecia despreocupado e alegre e que estava sempre pronto a organizar jantares e passeios, aproveitava com sofreguidão todos os pretextos para uns momentos de distracção; mas essa sofreguidão era a dum doente torturado pela dôr que procura num narcótico o alívio dos seus sofrimentos.

Diz a lei que o assunto de tese é de nossa livre escolha.

Para falar com franqueza, não sei bem qual é melhor: se termos êsse direito, se não o termos.

Nos tempos que vão correndo, talvez que a lei fosse acusada de despótica se nos impusesse um assunto obrigado. Mas eu creio bem que para muitos seria mais fácil fazer uma tese nessas condições, mesmo com um assunto um pouco ingrato, do que decidir-se por um qualquer entre os mil e um que lhes vêm à imaginação.

Perdemos tempo enquanto nos não decidimos por êste ou aquele assunto. Escolhido um hoje, amanhã abandonámo-lo porque nos surgem dificuldades inesperadas. Escolhemos outro, mas também o deixamos, porque nos parece que nele nada ou quási nada encontramos de

aproveitável. E assim vão passando os dias e a tese ainda por começar.

Mas um dia afigura-se-nos que um nos dá mais probabilidades de êxito do que os já tentados. Enveredamos por êle com todo o entusiasmo, mas passado algum tempo encontramos-lhe as mesmas dificuldades dos outros...

Pensamos em voltar atrás de novo. Mas vem-nos à mente a ideia de que, afinal, todos devem ter o seu quê de escabroso, e então decidimo-nos afoitamente.

Há dificuldades? Teima-se. E quem teima, vence.

*

Foi o que se passou connosco. Depois de algumas indecisões, fixámo-nos no assunto indicado no título dêste

trabalho, que nos foi sugerido pelo Snr. Professor Alberto de Aguiar.

A maior dificuldade encontrámo-la logo no principio — na parte técnica.

A imperfeição duns métodos e as dificuldades na aplicação de outros quási nos iam desanimando.

Começamos então a ver se podíamos arranjar um método que, tendo um rigor suficiente, fosse duma execução simples e prática, de maneira a permitir-nos fazer mais do que uma experiência ao mesmo tempo. Julgamos tê-lo conseguido. O júri o dirá.

Vencida esta primeira dificuldade, uma outra nos surgiu, embora relativamente menor.

Sabia-se já que certas lesões hepáticas fazem aumentar a quantidade de ácidos aminados e de amoniaco na urina. Mas afora isso, que já era conhecido, não havia

indicações que nos levassem a suspeitar de possíveis variações em casos de lesão dêste ou daquele órgão. Nestas condições, tínhamos de caminhar ao acaso, aproveitando os casos mais variados, para que, notada alguma diferença em qualquer deles, pudéssemos seguir sistematicamente o seu estudo, a ver se essa diferença se confirmava.

Foi o que fizemos. Alguma coisa encontramos e alguma coisa esperamos ainda encontrar em análises já feitas, pois além dos casos apresentados temos ainda muitos outros cujas variações não pudemos ainda relacionar com quaisquer estados patológicos. Se o conseguirmos, a seu tempo o diremos.

Aquilo que apresentamos pouco ou nenhum valor tem. Não temos a pretensão de nos julgarmos capazes de um trabalho de merecimento, muito embora nos sobeje

a vontade de o conseguir. Cada um faz o que pode e não o que quer. Que o douto júri que nos há de julgar atente bem nestas palavras.

*

Êste trabalho está dividido em cinco capítulos.

No primeiro tratamos dos ácidos aminados como constituintes da molécula proteica.

No segundo seguimos os ácidos aminados através do organismo até à formação de ureia e amoníaco e passagem para a urina.

No terceiro apreciamos os métodos de dosagem conhecidos e apresentamos o que foi por nós utilizado.

No quarto apresentamos as quantidades de ácidos aminados e de amoniaco que encontramos em urinas de individuos normais.

No quinto, finalmente, tratamos das mesmas substâncias nas urinas dos tuberculosos e dos diabéticos.

*

Antes de entrar no assunto dêste trabalho cumpre-me agradecer ao Snr. Professor Doutor Alberto de Aguiar os preciosos ensinamentos que me deu para a sua execução, a franqueza com que pôs à minha disposição os recursos do seu Laboratório e a boa vontade que mostrou ao ser convidado para meu presidente de tese.

...comme un homme qui marche
seul et dans les tenebres, je me resolu
d'aller si lentement et d'user tant de
circonspection en toutes choses que, si
je n'avançois que fort peu, je me gar-
derois bien au moins de tomber.

Descartes—*Discours de la méthode*

OS ÁCIDOS AMINADOS NA CONSTITUIÇÃO DA MOLÉCULA PROTEICA

Só a título de preparo e compreensão dos capítulos que se seguem, vamos abordar muito resumidamente a constituição dos albuminoides no que ela tem de mais característico.

Está hoje definitivamente assente que a molécula albuminoide é constituída, pelo menos na sua maior parte, por agrupamentos relativamente simples e químicamente definidos — os ácidos aminados. Os factos que há a favor desta asserção são os seguintes:

1.º — Os albuminoides submetidos à hidrólise, quer pelos álcalis (processo de SCHUTZENBERGER), quer pelos ácidos (processos de KOSSEL e de FISCHER), quer ainda pelos fermentos proteolíticos, dão origem a produtos vários, entre os últimos dos quais estão os ácidos aminados. É verdade que entre êsses produtos se

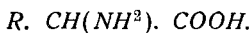
encontram substâncias mais simples, principalmente o amoníaco, mas admite-se que essas provêm duma decomposição secundária dos ácidos aminados.

2.º — Reunindo ácidos aminados em determinadas condições, obtêm-se substâncias que dão as reacções dos albuminoides (poliptídeos de FISCHER).

Os ácidos aminados, como o seu nome indica, são ácidos orgânicos em que um ou mais átomos de hidrogénio são substituídos por outros tantos agrupamentos NH^2 .

É curioso o facto de que os ácidos aminados até hoje retirados do organismo têm todos o radical ou um dos radicais NH^2 no átomo de carbono immediato ao carboxilo, isto é, em posição α .

A sua fórmula geral é, portanto,



Entre os ácidos aminados que entram na constituição dos albuminoides, os mais importantes são os seguintes:

Ácidos monoaminados monobásicos — Glicocola, alanina, valina, leucina, isoleucina, fenil-alanina, serina e tirosina.

Ácidos monoaminados bibásicos — Ácido aspártico e ácido glutâmico.

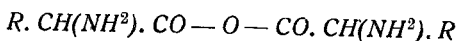
Ácidos diaminados monobásicos — Lisina e arginina.

Ácidos aminados sulfurados — Cisteína e cistina.

Ácidos aminados heterocíclicos — Prolina, oxiprolina, triptofano e histidina.

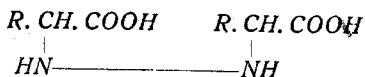
Como estão ligados entre si êstes ácidos aminados?

Os ácidos aminados têm a função amina, que é de reacção alcalina, e a função ácido, de reacção contrária. Se ligarmos dois ácidos aminados pelos agrupamentos ácidos, vem-nos um corpo com a fórmula



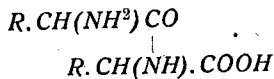
em que os agrupamentos ácidos se anulam reciprocamente, deixando em liberdade os agrupamentos aminados, que dão ao corpo formado uma reacção fortemente alcalina; ora os albuminoides têm uma reacção mais ou menos neutra. Além disso, bloqueando ambos os agrupamentos ácidos, não podíamos admitir um terceiro ácido aminado ligado aos dois primeiros nas condições em que êstes estão entre si.

Se imaginarmos a ligação feita pelos agrupamentos aminados, o corpo resultante da reunião de dois terá a fórmula



o que também não é admissível, porque teria reacção fortemente ácida e porque não poderíamos juntar-lhe terceiro ácido aminado, como na primeira hipótese. Por outro lado, a ligação deve ser feita por perda de água e não por simples perda de hidrogénio, porque a scisão dos albuminoides faz-se por hidratação e não por hidrogenação.

Em vista disto, só uma hipótese fica de pé: os ácidos aminados reúnem-se por ligação do agrupamento ácido de um ao aminado do outro. O corpo resultante será de fórmula



fórmula esta que satisfaz às três condições: ligação por desidratação, reacção neutra ou quási neutra por compensação recíproca das duas funções livres (ácido e amina) e possibilidade de admitir um número indefinido de ácidos aminados ligados entre si pelo mesmo processo.

Foi nas condições desta última hipótese que FISCHER fez a síntese dos seus políptídeos, o mais elevado dos quais, constituído por 18 ácidos aminados, tem os caracteres físicos e dá as reacções químicas das proteínas naturais.

II

METABOLISMO PROTEICO — FISIOLOGIA DOS ÁCIDOS AMINADOS E FORMAÇÃO DO AMONÍACO NO ORGANISMO

1.º — OS ÁCIDOS AMINADOS NA PAREDE INTESTINAL

Ponhamos de parte a absorção gástrica e a possibilidade da absorção de proteicos naturais, albumoses e peptonas pela parede intestinal, assuntos que têm sido e continuam a ser muito discutidos mas que não cabem no programa do nosso trabalho, e vejamos o que sucede aos ácidos aminados provenientes da digestão das proteínas, depois de absorvidos pela mucosa do intestino.

Onde se reúnem para formarem os proteicos da economia? Na própria parede intestinal? No fígado? Ou será em todos os órgãos, fazendo cada um a síntese dos albuminoides de que necessita?

As principais teorias que consideram a parede intestinal como sendo o lugar onde essa síntese se efectua, são a de ABDERHALDEN e a de FREUND.

Teoria de Abderhalden — ABDERHALDEN e LONDON fizeram as seguintes experiências:

A três cães com fístula de Eck deram a um albumina de ovo, a outro carne muscular e a outro gliadina, substâncias estas em que a percentagem de ácido glutâmico é diferente. Decorridos alguns dias só com esta alimentação, verificaram: 1.º — que o sangue dos cães não dava reacção de precipitação com as proteínas correspondentes, donde concluíram que elas tinham sido digeridas; 2.º — que no mesmo não encontravam albuminoides incoaguláveis nem ácidos aminados, o que os levou a concluir que os produtos da digestão tinham sido empregados na síntese de proteicos.

Além disso notaram que um cão com a mesma fístula, sendo alimentado com carne que tinha sofrido uma hidrólise avançada, se conservou durante oito dias em equilíbrio azotado e com o mesmo pêso.

Dos resultados destas experiências concluiu ABDERHALDEN que é no intestino que se faz a síntese dos proteicos e que êstes são levados aos tecidos já elaborados.

A teoria de ABDERHALDEN tem contra si dois argumentos de valor.

1.º—Do facto de êle não ter encontrado ácidos aminados no sangue dêsses animais, não podia concluir com segurança que realmente lá não existissem. Além disso, nós sabemos hoje, como veremos mais adiante, que o sangue contém sempre ácidos aminados, mesmo depois dum jejum prolongado; portanto, se fossem bons os processos empregados por ABDERHALDEN na sua investigação, devia encontrar pelo menos os que existem normalmente.

2.º—Os albuminoides empregados eram muito diferentes na sua constituição, portanto de produtos de hidrólise também muito diferentes, tanto em qualidade como em quantidade. A elaboração da molécula proteica na parede intestinal daria, portanto, substâncias desiguais em cada experiência, o que não está em conformidade com a reconhecida especificidade química dos proteicos.

Admitindo mesmo que os ácidos aminados supérfluos eram novamente lançados no intestino e que os proteicos estivessem em harmonia com a especificidade química para os animais considerados, como poderia o intestino por si só fabricar substâncias próprias para êste ou aquele tecido e em harmonia com as necessidades de cada um?

Teoria de Freund—Para FREUND, a síntese dos proteicos faz-se na parede intestinal, como na teoria de ABDERHALDEN. A diferença entre as duas teorias está em que FREUND supõe que a substância elaborada, a que êle chama *pseudo-globulina*, se dirige para o fígado pela veia porta e aí sofre uma desintegração. Essa acção do fígado diz FREUND que é específica dos proteicos de elaboração intestinal, naturalmente para explicar o facto de serem poupados os albuminoides do sangue.

Em opposição a esta teoria há as experiências de ABDERHALDEN e LONDON, já citadas, as quais nos mostram que, para o equilíbrio azotado, não é obrigatória a passagem pelo fígado.

Há ainda a opor a esta teoria os resultados duma experiência de HENRIQUES e ANDERSEN, em que êstes investigadores conseguiram ter um grou em equilíbrio azotado durante 20 dias só com produtos de hidrólise proteica introduzidos por injeção na veia jugular, o que lhes impedia a passagem pela parede intestinal.

Por outro lado, fazendo-se a síntese na parede intestinal, o sangue da veia porta não conteria ácidos aminados; ora nós sabemos hoje que os contém sempre, como o da circulação geral, e que êles aumentam até durante a absorção dos produtos de hidrólise dos proteicos.

2.º — OS ÁCIDOS AMINADOS NO SANGUE

O conhecimento da existência dos ácidos aminados no sangue, e sobretudo no da veia porta, veio abalar fortemente as teorias a favor da síntese dos proteicos na parede intestinal.

HOWELL e BINGEL em 1906, operando com o cloridrato do ácido β -naftalenò-sulfónico, tiveram as primeiras provas dessa existência, que foi confirmada em 1908 por HOLWEG e MEYER.

Em 1910 DELAUNAY, aplicando o método do formol ao sangue dalguns invertebrados, conseguiu dosear os ácidos aminados e estabelecer relações entre os diferentes azotados não proteicos lá representados.

Continuando êsses trabalhos em sangue de vertebrados, obteve os seguintes resultados nos mamíferos:

Azoto aminado	4,2 a 6 mgr. por 100 cc			
» amoniacal.	0,8 a 1,2 »	»	»	»
» ureico	9 a 12,8 »	»	»	»
» indeterminado	4 a 10,8 »	»	»	»
Total do azoto não proteico	18 a 32	»	»	»

Como se vê por êstes números, as variações a que estão sujeitos os ácidos aminados e o amoníaco do sangue são relativamente pequenas.

Querendo ver as modificações que se passam depois da absorção, o mesmo autor fez as seguintes experiências: Depois de ter dois cães em jejum durante algum tempo, deu-lhes uma refeição de carne e verificou que tanto os ácidos aminados como o amoníaco tinham aumentado no sangue, notando ainda que no da veia porta essas substâncias se encontravam em maior percentagem que no da circulação geral. Em outros dois cães em jejum fez a dosagem dos ácidos aminados e do amoníaco do sangue, introduziu-lhes depois no intestino, por meio duma cânula, os produtos duma digestão prolongada de carne, e decorrida uma hora verificou que tanto os ácidos aminados como o amoníaco tinham aumentado no sangue da circulação geral e mais ainda no da veia porta.

Destas experiências concluiu DELAUNAY o seguinte:

1.º — Os proteicos são absorvidos sob a forma de ácidos aminados.

2.º — A absorção faz-se imediatamente depois da hidrólise.

3.º — Os ácidos aminados são decompostos, pelo menos em parte, muito provavelmente no fígado.

Quando DELAUNAY chegou a estas conclusões, já outros autores, VAN SLYKE e MEYER, operando com o ácido

azotoso, tinham notado igualmente a presença de ácidos aminados no sangue e o seu aumento após as refeições.

GORCHKOFF, GRIGORIEFF e KOUTOURSKY, operando ora pelo formol ora pelo ácido azotoso, determinaram a quantidade de azoto aminado no sangue humano depois de precipitação dos proteicos pelo bicloreto de mercúrio. Obtiveram os seguintes resultados:

Em indivíduos normais 12 a 13 miligramas por cento, elevando-se essa quantidade a 15 e 16 depois das refeições. Em doentes, a quantidade aumentava geralmente, sendo o aumento mais pronunciado depois das refeições, mórmente nos casos de doenças do fígado.

STADIE e VAN SLYKE notaram que êsse aumento era muito grande na atrofia amarela aguda do fígado.

FOLIN diz que a quantidade de ácidos aminados no sangue é quási constante no estado normal e que, mesmo em estados patológicos que a façam variar, essas variações são menores que as dos outros compostos azotados não proteicos.

DESQUEIROUX, num trabalho publicado ainda êste ano, diz que encontrou como quantidade normal 4,9 a 6,1 miligramas por cento, 3 horas depois dum almoço ligeiro, notando que, nos casos patológicos observados, essa quantidade aumentava quási sempre.

Pelo que se acaba de ver, não resta dúvida alguma àcerca da existência de ácidos aminados no sangue.

É verdade¹ que os números apresentados pelos autores referidos diferem bastante uns para os outros. Essas diferenças são devidas, sem dúvida, ao facto de terem seguido diferentes processos de dosagem, todos êles ou quási todos imperfeitos. Contudo, não deixa de ficar provada a existência de ácidos aminados no sangue nem as suas variações patológicas, visto que, operando cada autor sempre da mesma forma, os êrros sistemáticos dos diferentes métodos incidem igualmente sôbre uns e outros casos, normais ou patológicos.

Maç a existência de ácidos aminados no sangue, embora tenha abalado as teorias que admitem a síntese dos proteicos na parede intestinal, não as destruiu por completo. É muito possível que só uma parte dos ácidos aminados entre no sangue e que os restantes se combinem entre si na parede intestinal.

Com efeito, LOMBROSO e ARTOM notaram que, embora os ácidos aminados aumentem no sangue durante a absorção, êsse aumento é menor que a sua diminuição no intestino, podendo a diferença exceder 30 %₀. É verdade que há aumento de amoníaco, mas êsse aumento é pequeníssimo em relação à quantidade de ácidos aminados desaparecidos.

Ora êstes resultados, à falta de melhor interpretação, só podem ser explicados pela síntese de produtos mais elevados na parede intestinal.

Que succede aos ácidos aminados que entram na circulação?

Tem-se verificado que a sua quantidade diminui no sangue desde que a absorção termina.

Três hipóteses podem ser apresentadas para explicar êste facto:

- 1.º — Decomposição no sangue;
- 2.º — Agrupamento entre si para formação dos diferentes proteicos;
- 3.º — Absorção pelos tecidos sem prévia transformação química.

Segundo VAN SLYKE e MEYER, comportam-se em harmonia com esta última hipótese. Contudo, a absorção nunca é completa, pois o sangue contém sempre ácidos aminados.

Parece, portanto, que há um certo equilíbrio na sua distribuição pelo sangue e pelos tecidos.

Os mesmos autores notaram que o fígado é o órgão com maior poder de absorção para êles e que os que por êsse órgão são absorvidos desaparecem

rápidamente. Êste facto está de acôrdo com as experiências de DELAUNAY, já citadas, em que êste autor notou, depois das refeições, um aumento da quantidade de ácidos aminados maior no sangue porta do que no da circulação geral.

Para os ácidos aminados que desaparecem no fígado podemos admitir três destinos diferentes:

1.º—Eliminação pela bÍlis; esta hipótese não é aceitável, porque a quantidade de ácidos aminados da bÍlis é muitíssimo pequena em relação aos que desaparecem no fígado.

2.º—Elaboração de proteicos no fígado; hipótese aceitável e seguida por alguns fisiologistas, embora ainda não demonstrada duma maneira clara.

3.º—Desaminação com formação de amoníaco, sendo êste transformado depois em ureia.

Os diferentes autores inclinam-se mais para esta última hipótese.

É claro que a acção do fígado não atinge todos os ácidos aminados que por lá passam, pois nós já dissemos que êstes aumentam na circulação geral depois da absorção.

Vejamos se poderemos dar uma explicação aceitável àcerca da maneira como se passam os factos.

O organismo, para conservar o seu equilíbrio azotado, precisa duma certa quantidade de ácidos aminados, em determinadas proporções entre si. Mas como os albuminoides da alimentação são diferentes dos do organismo, os ácidos aminados entram na constituição dos primeiros em quantidades diferentes daquelas em que se acham representados nos últimos. O organismo tem, portanto, de fazer uma selecção, aproveitando os precisos e destruindo o excesso dos que estiverem em proporção maior que a necessária.

Por outro lado, por maior que seja a quantidade de albuminoides da alimentação, não se nota aumento da sua quantidade no organismo. O excesso de ácidos aminados absorvidos sofre, portanto, uma decomposição, provavelmente em ácidos gordos e amoníaco, transformando-se êste por sua vez em ureia.

Ora é muito provável que o fígado, colocado como uma barreira entre a circulação porta e a circulação geral, seja o órgão encarregado desta selecção, quer lance depois os produtos seleccionados no sangue, como querem uns, quer edifique com êles a molécula proteica, como querem outros.

A hipótese da destruição duma parte dos ácidos aminados absorvidos, hoje aceite por todos ou quasi todos os fisiologistas, está em harmonia com os trabalhos de FOLIN sôbre o metabolismo azotado.

Examinando urinas em períodos de alimentação de luxo e de alimentação sem azoto, FOLIN confrontou as quantidades dos compostos azotados existentes numas e noutras e notou o seguinte:

1.º — As quantidades de creatinina e de amoníaco eram sensivelmente as mesmas em todas as urinas, desde que a acidez não variasse, porque neste caso variava também a quantidade de amoníaco.

2.º — O ácido úrico variava, aparecendo nos períodos de alimentação de luxo cêrca do dôbro do que aparecia na alimentação sem azoto.

3.º — A ureia era a substância azotada que mais variava, chegando a aparecer na alimentação sem azoto em quantidades quatro a cinco vezes menores que na outra.

Os resultados destas experiências levaram-no a dividir o metabolismo azotado em duas espécies: um metabolismo constante, que dá origem às substâncias eliminadas mesmo sem alimentação azotada, as quais êle considera como produtos de destruição dos tecidos; e um metabolismo variável, origem dos produtos de eliminação azotada que excedem em quantidade os do metabolismo constante, que êle considera correspondente aos azotados da alimentação não aproveitados pelo organismo. Ao primeiro, que conta entre

os seus produtos finais toda a creatinina, todo o amoníaco e ainda parte da ureia e do ácido úrico, chama êle *metabolismo endogéneo*; ao segundo, a que pertencem as quantidades restantes de ureia e de ácido úrico, dá o nome de *metabolismo exogéneo*.

Portanto, o aumento de azotados na alimentação provoca o aumento da ureia e do ácido úrico, sem fazer variar os demais compostos em que entra o azoto. E visto que o ácido úrico provém das bases púricas que fazem parte do grupo prostético dos nucleoproteidos, conclui-se que a parte azotada dos ácidos aminados em excesso é transformada em ureia à medida que entra no organismo.

3.º—OS ÁCIDOS AMINADOS NOS TECIDOS

Vejamos agora o que sucede aos ácidos aminados do sangue que são destinados aos proteicos do organismo.

Podemos admitir duas hipóteses: 1.^a—a elaboração no fígado de uma *albumina neutra*, semelhante à que ABDERHALDEN supõe formada na parede intestinal, a qual seria depois distribuída igualmente a todos os tecidos e por êstes transformada em albuminoides semelhantes aos seus; 2.^a—a distribuição dos ácidos aminados aos tecidos, sem elaboração prévia.

Lembrando-nos das experiências de DELAUNAY, atrás citadas, pelas quais êste autor verificou que depois das refeições havia aumento de azoto aminado no sangue da circulação geral, parece-nos à primeira vista que temos de aceitar como mais provável a segunda das hipóteses apresentadas.

Mas êsse aumento não quer dizer que todos êles passem livremente no fígado.

Nós já vimos que êle não está em relação com o aumento no sangue porta e atribuímos êsse facto a uma transformação do azoto aminado em ureia, transformação essa operada no fígado.

Por outro lado, LOMBROSO e ARTOM notaram que os ácidos aminados são em parte fixados pelo fígado sem transformação em ureia, porque, se existirem em pequena proporção no sangue proveniente do intestino, essa proporção aumenta na passagem através daquele órgão. Verificaram ainda os mesmos autores que o aumento do azoto aminado no fígado e no sangue da circulação geral, junto ao do azoto da ureia e do amoníaco formados, não corresponde ao aumento dos ácidos aminados no sangue da veia porta; há, portanto, uma fracção de azoto aminado de que não se conhece o destino, mas que, muito provavelmente, é empregada pelo fígado na elaboração de proteicos.

Mas o que é certo é que também passam ácidos

aminados pelo fígado sem sofrer transformação e parece até, pelo que vimos, que êsse órgão tem um papel regulador no que respeita à sua passagem ao sangue, análogamente ao que se dá com os hidratos de carbono.

Passando os ácidos aminados ao sangue, são por êste levados aos tecidos e, uma vez aí, são empregados na elaboração de proteicos, sendo alguns fixados sem transformação prévia.

Mas os ácidos aminados não são fixados igualmente por todos os tecidos. Por um lado, pelas experiências de VAN SLYKE e MEYER sabe-se que os diferentes tecidos atingem o limite de saturação para os ácidos aminados em alturas diferentes; por outro lado, LOMBROSO verificou que a avidez para um ou outro ácido aminado varia conforme a natureza do tecido considerado, de tal sorte que um ácido aminado que é mais fortemente absorvido por um determinado tecido, não o é necessariamente por qualquer outro.

A hipótese de alguns ácidos aminados poderem atravessar a circulação, para só se reunirem ao nível dos tecidos, tem a seu favor grande número de investigadores e deve chamar a si todos ou quási todos os fisiologistas.

4.º — DESINTEGRAÇÃO DOS PROTEICOS — ÁCIDOS AMINADOS, AMONÍACO E UREIA

Os ácidos aminados, que são, como acabamos de ver, os produtos empregados na elaboração da molécula proteica, estão também entre os seus produtos de desintegração.

Não é crível que a molécula albuminoide se transforme duma assentada em água, gás carbónico e ureia, seus produtos finais. Sendo assim, fazendo-se a scisão da molécula albuminoide antes da sua oxidação, é mais provável que essa scisão se faça pelos pontos de ligação dos ácidos aminados entre si do que por outros pontos quaisquer; assim sucede com os albuminoides que são hidrolizados *in vitro*.

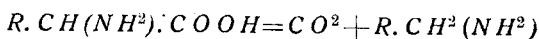
Por outro lado, nós já vimos que no sangue existem ácidos aminados em quantidade sensivelmente constante, conservando-se essa quantidade mesmo durante jejuns prolongados e podendo aumentar até se o jejum tiver uma duração excessiva.

Êsses ácidos aminados só podem provir dos albuminoides do organismo e o facto de a sua percentagem aumentar com o prolongamento do jejum explica-se pelo maior gasto de proteicos quando estão esgotadas as reservas de hidratos de carbono e de gorduras.

Os ácidos aminados provenientes da desintegração dos proteicos são lançados no sangue para serem transformados em água, gás carbónico e ureia e sob estas formas serem eliminados.

No interior dos tecidos, porém, já começam a sofrer transformação. Mas, como aí o oxigénio é pouco abundante, os ácidos aminados sofrem uma combustão interna, perdendo ácido carbónico e transformando-se em produtos de redução, as leucomainas, análogas às ptomainas que se formam no intestino por acção das bactérias de putrefacção.

As leucomainas são substâncias de função amina e formam-se como se vê na seguinte equação:



Mas só uma pequena porção de ácidos aminados sofre esta transformação.

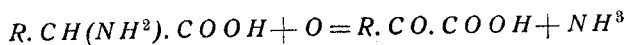
As transformações que elles sofrem na sua quasi totalidade parecem ser as seguintes: primeiro dá-se uma desaminação, libertando-se o radical amidogénio sob a forma de amoníaco e formando-se um ácido gordo; depois o amoníaco formado transforma-se em ureia, que é eliminada, e o ácido é empregado na produção de energia ou guardado como reserva.

Admite-se a desaminação em primeiro lugar: 1.º — porque é uma operação que se consegue *in vitro*,

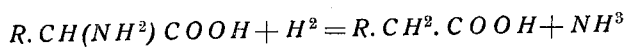
em presença de tecidos frescos; 2.^o — porque depois duma abundante refeição de carne o azoto é eliminado mais depressa que o carbono; 3.^o — porque depois da ingestão de grandes quantidades de ácidos aminados têm-se encontrado na urina os ácidos correspondentes já desaminados.

Quanto ao mecanismo de desaminação, podemos admitir três formas: oxidação, hidrogenação e hidratação.

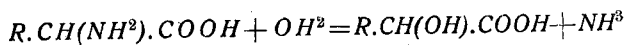
Por oxidação, a função amina é substituída pela função acetona:



Por hidrogenação obtém-se um ácido gordo simples:



Por hidratação, finalmente, forma-se um ácido-alcool:

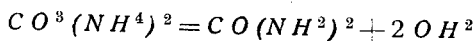


Esta última forma de desaminação é comprovada pela seguinte experiência: se injectarmos a um coelho

alanina ou ácido diamino-propiónico, encontramos na sua urina respectivamente ácido láctico ou ácido glicérico, isto é, o ácido-alcool correspondente.

O amoníaco proveniente da desaminação é transformado em ureia, como já dissemos.

Como o sangue contém gaz carbónico, a primeira transformação será em carbonato de amónio. Quanto à transformação do carbonato de amónio em ureia, basta uma desidratação para ela se efectuar, como se vê pela seguinte equação:



Mas o amoníaco não é todo transformado em ureia. Como os produtos ácidos da desassimilação são geralmente em maior quantidade que os alcalinos, o organismo, para evitar que aumente a acidez do seu meio, neutraliza parte do excesso dos primeiros com amoníaco, que subtrai assim à transformação em ureia.

Onde se dá a transformação do azoto aminado em ureia?

Como já vimos, parece ser o fígado o órgão encarregado da destruição que sofrem os ácidos aminados que entram no organismo. Sendo assim, não nos repugna admitir que o mesmo órgão tenha um papel

importante na destruição dos que provêm da desintegração dos proteicos.

Assim é, com efeito. Mas as experiências que se têm feito nesse sentido autorizam-nos a dizer que o fígado não é o único órgão encarregado desta transformação. Por um lado, nós já dissemos que todos os tecidos têm poder desaminante; por outro lado, nos animais a que se tira o fígado o amoníaco aumenta na urina e a ureia diminui, mas a diminuição desta substância fica muito longe da sua ausência. Daqui se conclui que a função ureiogénia não é exclusiva do fígado.

A ureia e o amoníaco são, portanto, os últimos representantes azotados das proteínas. Mas uma parte dos ácidos aminados foge à transformação nessas substâncias e passa para a urina, onde nós os vamos encontrar.

5.º — O AMONÍACO E OS ÁCIDOS AMINADOS NA URINA

Já há muito que se sabe da existência de amoníaco na urina.

Como acabamos de ver, o amoníaco é um dos precursores da ureia, representando, portanto, uma parte do azoto não ureificado.

Mas o aumento da sua quantidade na urina não

indica, só por si, que a função ureiogénia está comprometida. Já dissemos que uma parte do amoníaco não sofre a transformação em ureia porque o organismo o emprega na neutralização dos ácidos, quer provenientes da desassimilação, quer introduzidos acidentalmente no meio interno. É essa a razão porque êle é mais abundante na urina dos carnívoros do que na dos herbívoros: as nucleinas ingeridas pelos primeiros, por oxidação do fósforo e do enxôfre que contêm, dão origem à formação de ácidos fosfórico e sulfúrico, e êstes combinam-se com uma certa quantidade de amoníaco, que subtraem, assim, à ureificação.

Quanto aos ácidos aminados, a sua existência na urina é de conhecimento mais recente.

Em determinados casos patológicos aparecem por vezes cristais de cistina, leucina e tirosina; no estado normal só há um cuja existência na urina está provado ser constante: a glicocola.

O primeiro que os isolou parece que foi FISCHER; empregou para isso o cloridrato do ácido β -naftalenò-sulfónico, que dá com os ácidos aminados combinações químicamente definidas. Os produtos dessa reacção caracterizam-se duma maneira geral pela solubilidade: são difficilmente solúveis na água, mesmo quente, solúveis nos álcalis com formação de sais que

precipitam pelos ácidos, facilmente solúveis em álcool e éter; a separação entre si funda-se nas diferenças entre os seus éteres etílicos.

SAMUELLY, mais tarde, servindo-se do mesmo método com técnicas diferentes, verificou que a urina normal contém sempre glicocola, além da que faz parte do ácido hipúrico.

Contudo, a pequena quantidade em que êles existem fazia com que muitos investigadores tivessem dificuldade em os encontrar, tanto mais que os processos de isolamento só permitem obter uma fracção.

ABDERHALDEN e SCHITTENHELM por um lado e FORSSNER por outro, empregando o cloridrato do ácido β -naftalenò-sulfónico, só conseguiam separar, quando muito, 30 % da quantidade que depois se soube ser normal.

Outros métodos foram depois empregados, como o do oxicianêto de naftol β , de NEUBERG e MANASSE.

Mas o estudo dos ácidos aminados urinários só tomou incremento quando o método do formol, aplicado por SÖRENSEN, permitiu doseá-los duma maneira exacta. Desde então vários investigadores tem lançado mãos à obra, quer procurando novos métodos de dosagem ou simplificando os antigos, quer vendo se encontram a sua significação e se explicam as variações da sua quantidade.

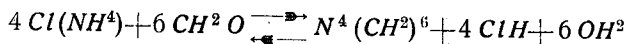
III

A DOSAGEM DO AZOTO AMINADO E AMONIAICAL NA URINA

1.º — O MÉTODO DO FORMOL PARA A DOSAGEM CONJUNTA

A mais antiga nota que encontrámos a respeito da acção do formol sôbre o amoníaco, faz parte duma comunicação de DELÉPINE à *Sociedade Quimica de França*, apresentada em 1895.

Êste investigador notou que, fazendo reagir o aldeido fórmico com um sal amoniacal, o amoníaco era em parte transformado em hexametilena-tetramina e, em virtude de ficar em liberdade o ácido correspondente à porção de amoníaco transformado, havia um aumento da acidez do meio. Notou ainda o mesmo investigador que a reacção era reversível, podendo ser expressa pela seguinte equação, em que se toma para exemplo o clorêto de amónio:



A reacção caminha, portanto, até um certo ponto,

onde estaciona em equilíbrio com a reacção inversa.

CAMBIER e BROCHET, estudando o assunto, verificaram que essa reacção se dava não só com os sais amoniacaes mas também com os sais de aminas. Verificaram ainda que, se a reacção tinha um limite, isso era devido ao facto de só uma parte do formol entrar em reacção; juntando um grande excesso d'êste reagente todo o amoníaco era transformado, ficando o ácido correspondente em liberdade e em condições de ser titulado pelos métodos acidimétricos ordinários.

RONCHÈSE aproveitou o conhecimento d'êste facto para o seu método de dosagem do amoníaco na urina.

No primeiro artigo sôbre o assunto, escrito em 1907, êste autor aconselhava a seguinte técnica:

Tomar 10^{cc} de urina e juntar-lhe 100^{cc} de água destilada e fervida (para ficar isenta de gaz carbónico) e umas gotas de fenolftaleína; neutralizar com soda até côr rosada; juntar 20^{cc} de formol a 20 % (formol do comércio a $\frac{1}{2}$), préviamente neutralizado à fenolftaleína; neutralizar com soda titulada até à côr que o líquido tinha antes da adição de formol. A quantidade de soda gasta na segunda neutralização é equivalente à quantidade de amoníaco da urina.

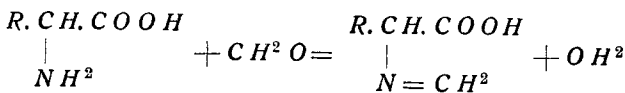
Como os sais amoniacaes retardam um pouco a

mudança de côr da fenolftaleína, a quantidade de soda gasta na primeira neutralização é maior que a quantidade teórica, o que faz com que seja menor da segunda vez, porque então já não há amoníaco. Isto mesmo já foi notado pelo autor do método, que mandava corrigir o número obtido, multiplicando-o por 1,033.

É verdade que há indicadores que não têm a indecisão da fenolftaleína em presença do amoníaco, mas êsses não convêm porque a hexametilena-tetramina formada é alcalina em presença deles, facto êsse que modificaria os resultados, ao passo que à fenolftaleína comporta-se como neutra.

O método de RONCHÈSE foi combatido pouco depois por HUGOUNENQ e MOREL, que o acusaram de não ser exacto, em virtude de o formol reagir não só com o amoníaco mas também com os ácidos aminados que existem na urina.

Com efeito, SCHIFF tinha notado já antes disso, em 1899, que os ácidos aminados reagem com o formol segundo a equação



facto análogo ao que já em 1897 tinha verificado

ERLENMEYER com o aldeido benzoico, e que CLEMENTI, mais recentemente, observou até com os ácidos aminados em que um dos átomos de hidrogénio da função amina está substituído por um radical qualquer. Ora como a função amina, de reacção básica, fica bloqueada pelo agrupamento metilénico, dá-se um aumento da acidez do meio, como nos casos de sais amoniacaes. O próprio RONCHÈSE, reconhecendo êsse facto, tem aconselhado posteriormente a dosagem pelo método primitivo, subtraindo depois ao número obtido a quantidade de ácidos aminados existentes na urina.

Mas, se o método de RONCHÈSE não nos dá a quantidade de amoníaco, dá com bastante rigor o conjunto — amoníaco e ácidos aminados.

Com efeito, quási ao mesmo tempo que RONCHÈSE nos deu o seu processo, SÖRENSEN mostrou que pelo formol podíamos dosear com bastante exactidão os ácidos aminados, pois o aumento da acidez corresponde ao azoto da função amina. Com soluções conhecidas de vários ácidos aminados observou que, operando em determinadas condições e com a fenolftaleina como indicador, os números obtidos oscilavam entre 98 e 100 % da quantidade teórica, a não ser para a tirosina, em que a quantidade achada atingia 105 % e às vezes mais, e para a histidina e a prolina, nas

quais podia descer respectivamente a 91 e 85 % e por vezes ainda mais abaixo.

Como a glicocola é o ácido aminado mais abundante na urina e até o único encontrado duma maneira segura, e como, por outro lado, essa substância é das mais exactamente doseáveis pelo formol, o método satisfaz plenamente à dosagem do conjunto do azoto aminado e amoniacal.

FREY e GIGON, depois de experimentarem êste método na urina, fizeram a apologia do seu emprêgo, dizendo que a xantina, a creatinina, a creatina, a ureia e os ácidos úrico e hipúrico são indiferentes ao formol; segundo êles, de todos os azotados da urina, além do amoníaco e dos ácidos aminados, só as aminò-purinas dão essa reacção.

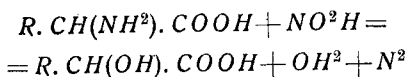
2.º — DOSÁGEM SEPARADA DO AZOTO AMINADO E AMONICAL

Se nos é fácil dosear com bastante precisão os ácidos aminados e o amoníaco em conjunto, o mesmo não acontece se quizermos fazê-lo separadamente. É que os reagentes empregados para a dosagem dos ácidos aminados actuam também sôbre o amoníaco e, inversamente, os do amoníaco actuam sôbre os ácidos aminados.

Os métodos mais seguidos para a dosagem dos ácidos aminados são o de VAN SLYKE e o do formol, cuja teoria já descrevemos.

A-MÉTODO DE VAN SLYKE

Este método funda-se na libertação do azoto da função amina pelo ácido azotoso, conforme a equação seguinte:



O ácido aminado é transformado num ácido-alcool.

A operação faz-se num ureómetro, à maneira da dosagem da ureia pelo hipobromito de sódio; o azoto aminado é igual a metade do azoto libertado.

Este processo, além de ter uma técnica um pouco complicada no que diz respeito à operação no ureómetro, tem ainda os seguintes defeitos, que o próprio autor não foge a confessar:

1.º—O amoníaco é atacado pelo ácido azotoso, embora o seja menos que os ácidos aminados. Isto obriga à eliminação prévia desta base, para que os resultados não saiam errados; mas a eliminação do amoníaco sem atingir o azoto aminado, se é, duma

maneira geral, uma tarefa pouco fácil, é impossível pela acção da soda, que é o álcali empregado pelo autor do método. Mais adiante diremos as razões que nos levam a reprovar o emprêgo desta substância na libertação do amoníaco.

2.º — A ureia também é atingida pelo ácido azotoso. Diz o autor que o azoto ureico é libertado duma maneira regular; admitindo mesmo esta hipótese, temos de fazer duas operações seguidas com o fim de conseguirmos o resultado: a primeira para libertar o azoto aminado e a segunda, sôbre o líquido já empregado e operando exactamente nas mesmas condições, para apreciarmos a libertação do azoto ureico.

3.º — O ácido ázotoso não põe em liberdade o azoto da prolina e da oxiprolina.

B - MÉTODO DO FORMOL

Êste método tem sôbre o de VAN SLYKE as seguintes vantagens:

1.º — A acção do formol sôbre a ureia é nula.

2.º — Todos os ácidos aminados tomam parte na reacção.

Como já sabemos, applicando êste método à urina

obtemos não a quantidade de ácidos aminados mas sim a soma destes com o amoníaco. Para a dosagem separada, uns autores mandam dosear essa soma, dosear em seguida o amoníaco e achar por diferença a quantidade de ácidos aminados; outros mandam seguir o caminho inverso: dosear a soma, dosear directamente os ácidos aminados e obter o amoníaco por diferença.

Determinação dos ácidos aminados por diferença — Vamos ver que a determinação dos ácidos aminados por diferença tem seus inconvenientes.

Em primeiro lugar, o rigor no número obtido para os ácidos aminados depende do rigor havido nas duas determinações precisas para achar esse número. Sendo assim, os erros accidentais que porventura haja nessas duas determinações vão-se reflectir sobre a quantidade de ácidos aminados, podendo o erro nestes ser igual à soma dos outros dois se elles forem em sentido contrário. Ora, como a quantidade de ácidos aminados é muito pequena em relação às outras duas quantidades, um erro relativamente pequeno na determinação dessas duas vai reflectir-se na dos ácidos aminados como um erro relativo muito maior.

Por outro lado, se a determinação pelo formol da soma — ácidos aminados e amoníaco — é muito simples e bastante rigorosa, a determinação separada do

amoníaco não se faz com a mesma facilidade. É muito difícil dosear o amoníaco sem arrastar na dosagem os outros compostos azotados, principalmente a ureia e os ácidos aminados, e basta um pequeno êrro para mais para que os ácidos aminados, calculados por diferença, nos venham em quantidade... negativa, em vista da sua pequena porção.

Os métodos mais rigorosos para a dosagem do amoníaco exigem aparelhos complexos e uma vigilância especial, que não pode ser feita por quem tiver de fazer mais do que uma determinação ao mesmo tempo, e ainda assim estão sujeitos a êrros por acidentes que passam despercebidos ao analista. Quanto aos métodos simples, são em geral pouco rigorosos, sendo os seus erros devidos não a causas acidentais, como nos primeiros, mas às imperfeições próprias de cada método.

Entre os métodos simples destacaremos, contudo, o método de SCHLÖSING, que é um dos mais antigos. Consiste no seguinte: num cristalizador deita-se urina e leite de cal e em outro cristalizador uma quantidade conhecida de ácido sulfúrico titulado; põem-se os dois cristalizadores debaixo duma campânula herméticamente fechada, para que o amoníaco, libertado pela cal, seja todo absorvido pelo ácido sulfúrico; passa-

das 24 a 48 horas titula-se o excesso do ácido e obtém-se o amoníaco por diferença.

Destacamos o método de SCHLÖSING porque nas experiências a que procedemos verificamos que, sendo um método muito simples, é dos mais precisos no que diz respeito à libertação do amoníaco. Com efeito, se deixarmos a cal actuar durante o tempo indicado, *todo o amoníaco é libertado sem que sejam atingidos os outros compostos azotados*. (MOOG diz que a ureia também é atingida, mas que a quantidade de azoto por ela libertado é de décimos de miligrama). O único defeito que tem êste método não é devido ao álcali empregado, porque êste satisfaz plenamente, mas sim ao facto de que o ácido sulfúrico não absorve todo o amoníaco, o que dá em resultado obtermos um número inferior à realidade.

Determinação directa dos ácidos aminados. O princípio dos métodos de determinação directa dos ácidos aminados é o seguinte: precipitação do amoníaco por um reagente que não precipite os ácidos aminados e aplicação do método do formol ao filtrado.

Os principais métodos são o de BIRN e o de LEMATTE.

O método de BIRN consiste em precipitar o amoníaco sob a forma de fosfato amoníaco-magnésiano. Para isso trata-se a urina por fosfato bissódico e

magnésia calcinada; depois filtra-se e no filtrado, que não deve conter amoníaco, doseam-se os ácidos aminados pelo formol. Segundo LANZENBERG, que se insurgiu violentamente contra êle, êste método dá resultados errados, porque não é precipitado todo o amoníaco.

No processo de LEMATTE precipita-se o amoníaco pelo ácido fosfotúngstico em presença do clorêto de magnésio calcinado; no líquido desembaraçado do precipitado doseiam-se os ácidos aminados pelo formol.

Êste método tem o defeito de ficar caro, por causa da grande quantidade de ácido fosfotúngstico exigido em cada ensaio. Além disso, não conseguimos ver nele a precisão que lhe atribui o seu autor; fizemos algumas experiências nesse sentido com soluções conhecidas de glicocola e de sais amoniacaes, seguindo fielmente a técnica indicada pelo autor, e notámos que o ácido fosfotúngstico, além do amoníaco, atingia sempre a glicocola. Já mesmo antes de LEMATTE ter apresentado o seu método, LEVENE e BEATTY tinham notado que, em determinadas condições, os ácidos aminados podem ser precipitados por êsse reagente.

3.º—O MÉTODO QUE ADOPTAMOS

A—RAZÕES E EXPERIÊNCIAS QUE NOS LEVARAM A ADOPTÁ-LO

Em vista do exposto, o melhor caminho a seguir na dosagem dos ácidos aminados e do amoníaco é: fazer a sua dosagem conjunta pelo formol, fazer depois a dosagem directa dos ácidos aminados e obter o amoníaco por diferença.

Mas para fazer a dosagem separada dos ácidos aminados, precisamos de eliminar primeiramente o amoníaco.

Os processos que descrevemos para êste fim, e que têm por base as precipitações do amoníaco, já vimos que estão longe de serem vigorosos. Em vista dêste facto resolvemos procurar uma maneira de nos livrarmos do amoníaco sem que se perdesse azoto aminado e pensámos na eliminação pelos álcalis.

Experimentámos em primeiro logar a soda, por ser o mais conhecido e o mais fácil de obter. Os resultados a que chegámos foram os seguintes:

A soda não serve porque, além de eliminar o amoníaco, elimina também o azoto aminado, sendo esta eliminação completa ao fim de horas, para o caso da urina. Se tomarmos um pouco de urina e lhe juntar-

mos soda cáustica, mesmo que esta fique a 2 ou 3 %, passadas algumas horas (número que varia conforme a quantidade de ácidos aminados), verificamos que a urina já não tem azoto doseável pelo formol. Se fizermos uma solução de glicocola a 3 %, (correspondente a cêrca de 4 vezes o azoto aminado normal), e lhe juntarmos soda cáustica a 2 %, verificamos que passadas 24, o mais tardar 48 horas, já não há azoto aminado na solução.

Foram as experiências que fizemos neste sentido que nos levaram a reprovar, como vimos atrás, o método de VAN SLYKE, em que se faz a eliminação do amoníaco pela sôda cáustica.

Mas a libertação do amoníaco pela soda tem outro inconveniente, que é muito grande para quem quizer operar pelo formol. É que a soda carbonata-se, e em presença do ácido carbónico é inteiramente impossível fazer uma dosagem exacta. Por estas razões pusemos de parte a soda e nem sequer experimentámos a potassa, que por certo tem os mesmos inconvenientes.

Pensámos nos carbonatos alcaliños, que são utilizados em alguns métodos de dosagem do amoníaco e que não têm ou têm pouca acção sôbre os ácidos aminados. Mas, se os utilizássemos, estávamos caídos no segundo dos inconvenientes que apontámos a respeito da soda: termos de trabalhar em presença do

ácido carbónico. Por êsse motivo não os experimentámos.

Passámos a experimentar as bases alcalinò-terrosas.

Experimentámos a cal, que é a substância empregada na dosagem do amoníaco pelo método de SCHLÖSING. Como já dissemos quando tratámos dêste método, a cal liberta todo o amoníaco sem atingir os ácidos aminados. Mas tem um inconveniente para o caso dos ácidos aminados: como é muito pouco solúvel, a filtração é muito demorada.

Não experimentámos a magnésia, base insolúvel, por prevermos que teria o inconveniente da cal.

Por fim, experimentámos a barita. Esta base não tem o inconveniente da cal, porque é solúvel (cêrca de 5 % à temperatura ordinária). Também não tem um dos inconvenientes das bases alcalinas, que é obrigar a trabalhar em presença do ácido carbónico; não quer isto dizer que ela não fixe ácido carbónico, pois fixa-o como as bases alcalinas, mas o carbonato de bário formado é insolúvel e separa-se fácilmente por filtração.

Restava saber se satisfazia ao principal fim a que se destinava: libertação de todo o amoníaco sem atingir os ácidos aminados. Para isso fizemos várias experiências com urina, sais amoniacaes e ácidos aminados.

Com urina verificámos que, tratando-a pela barita, o azoto doseável ao formol ia diminuindo gradualmente até que ficava constante, mesmo que aumentássemos a quantidade de reagente (pelo menos durante alguns dias). A diminuição fazia-se, na quasi totalidade dos casos, em menos de 24 horas e a constância do azoto restante verificava-se durante pelo menos dez dias, tempo máximo de tratamento a que sujeitamos as urinas em experiência.

Como se vê, o azoto do formol consta de duas partes: uma que é facilmente libertada pela barita e outra que resiste a essa substância. Como o amoníaco é mais fácil de libertar do que o azoto aminado, concluímos que a parte libertada correspondia ao primeiro e a não libertada ao segundo.

Para comprovar esta conclusão, fizemos experiências com soluções de sais amoniacaes e de glicocola, por ser este ácido aminado o mais abundante na urina e o único cuja presença se pode afirmar constante nos casos normais.

Com sais amoniacaes verificámos que, seguindo a técnica adiante descrita para a urina, a barita libertava todo o amoníaco no prazo de 24 horas, desde que a sua quantidade não passasse de um grama por litro.

Com glicocola, a quantidade de azoto doseável ao formol ficava constante, pelo menos durante dez dias,

tempo máximo de tratamento a que sujeitámos aquela substância.

Com misturas conhecidas de glicocola e sais amoniacais, o azoto do formol diminuía até ficar constante, limite êste que era atingido em 24 horas de tratamento se a quantidade de amoníaco não excedesse um grama por litro. Êsse limite correspondia ao azoto da glicocola existente na solução.

Fizemos também experiências com soluções conhecidas e tituladas de ureia pura e verificámos que esta substância, tratada pela barita nas condições da nossa técnica, libertava por dia cêrca de 30 miligramas de azoto. A barita não é, portanto, um reagente próprio para um método rigoroso de dosagem directa do amoníaco, mas, para o nosso caso, não tem inconveniente, visto que a dosagem do amoníaco é por diferença.

Como se acaba de ver, a barita satisfaz plenamente ao fim que nos propusemos atingir: libertar o amoníaco sem tocar nos ácidos aminados. Por êsse motivo resolvemos adoptá-la nos nossos trabalhos.

B - TÉCNICA

Azoto do formol — Deitam-se num copo 20^{cc} de urina e juntam-se-lhe 50^{cc} de água destilada e fervi-

da (1) e umas gotas de fenolftaleína; neutraliza-se com soda até côr vermelha franca, mas não muito intensa; juntam-se 10^{cc} de formol a 20 % (formol do comércio a $\frac{1}{2}$) préviamente neutralizado à fenolftaleína até à côr da urina; neutraliza-se com soda decinormal até à coloração que o líquido tinha antes da adição de formol. (Se a quantidade de soda gasta nesta segunda neutralização for maior que 10^{cc}, junta-se nova quantidade de formol, neutraliza-se novamente e adiciona-se a nova quantidade de soda à anterior; é preciso que a quantidade de soda não exceda a de formol). Para se ter a certeza de que o líquido voltou à intensidade de coloração anterior, compara-se com a do formol neutralizado; se o tom da urina for muito diferente do do formol, compara-se com outra porção da mesma urina neutralizada à coloração da primeira.

Cada centímetro cúbico de soda decinormal corresponde a 14 decimiligramas de azoto. A quantidade por litro será, para n centímetros de soda:

$$x = n \times 1,4 \times 50 \text{ miligramas de azoto.}$$

Azoto aminado — Deitam-se num cristalizador 20^{cc} de urina, um grama de clorêto de bário e, depois da

(1) Nas determinações a que procedemos não operámos com água destilada, porque a água do Pôrto, por ser muito leve, não traz perturbação sensível.

dissolução dêste, 20^{cc} de barita saturada. (Em vez de deitar clorêto de bário sólido, pode empregar-se uma solução saturada de barita que já contenha 5 %/o daquele sal). Deixa-se ficar a actuar 24 horas, agitando por duas ou três vezes durante êste tempo, para desfazer a película de carbonato de bário que costuma formar-se à superfície. Ao fim dêste período de tempo deita-se-lhe uma gota de fenolftaleína.

Se o líquido estiver ácido ou fracamente alcalino, é sinal de que a quantidade de amoníaco é muito grande e então é preciso juntar nova quantidade de barita (ou de solução de clorêto de bário e barita) e deixar actuar períodos de 24 horas, até que a alcalinidade seja franca.

Se a reacção fôr francamente alcalina ao fim de 24 horas, o que acontece na quasi totalidade dos casos, pode fazer-se a dosagem; em todo o caso, se não houver urgência na análise, convém sempre deixar actuar outras 24 horas, porque os ácidos aminados conservam-se e a eliminação total do amoníaco é então absolutamente segura.

Feita a eliminação do amoníaco, filtra-se o líquido para um copo ou um balão, afim de separar o precipitado que se formou, e lava-se duas ou três vezes o cristalizador e o filtro, aproveitando sempre o líquido de lavagem. Juntam-se umas gotas de fenolftaleína e

ácido clorídrico diluído até descoloração. Com soda cáustica decinormal neutraliza-se até côr vermelha franca e juntam-se depois 5^{cc} de formol a 20 %₀, já neutralizado até à côr do líquido. Por fim neutraliza-se com soda decinormal até à coloração anterior.

A quantidade de azoto aminado é-nos dada pela mesma fórmula que o azoto do formol.

Azoto amoniacal— É a diferença entre o azoto aminado e o do formol.

Se operarmos sempre em 20^{cc} de urina e com soda decinormal, a quantidade de azoto, em miligramas por litro, é-nos dada pela tabela seguinte, que foi por nós construída e utilizada nas determinações que fizemos.

QUANTIDADE DE AZOTE POR LITRO, EM MILIGRAMAS, OPERANDO EM 20 CENTÍMETROS CÚBICOS DE URINA E COM SODA DECINORMAL.

$$x = n \times 1,4 \times 50$$

Centímetros cúbicos	Décimos de centímetro cúbico									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	0	7	14	21	28	35	42	49	56	63
1	70	77	84	91	98	105	112	119	126	133
2	140	147	154	161	168	175	182	189	196	203
3	210	217	224	231	238	245	252	259	266	273
4	280	287	294	301	308	315	322	329	336	343
5	350	357	364	371	378	385	392	399	406	413
6	420	427	434	441	448	455	462	469	476	483
7	490	497	504	511	518	525	532	539	546	553
8	560	567	574	581	588	595	602	609	616	623
9	630	637	644	651	658	665	672	679	686	693
10	700	707	714	721	728	735	742	749	756	763
11	770	777	784	791	798	805	812	819	826	833
12	840	847	854	861	868	875	882	889	896	903
13	910	917	924	931	938	945	952	959	966	973
14	980	987	994	1001	1008	1015	1022	1029	1036	1043
15	1050	1057	1064	1071	1078	1085	1092	1099	1106	1113
16	1120	1127	1134	1141	1148	1155	1162	1169	1176	1183

IV

O AZOTO AMINADO E AMONÍACAL NAS URINAS NORMAIS

1.º — ESCOLHA DE CASOS

Depois que fixámos a nossa técnica, o primeiro cuidado que tivemos foi procurar saber as quantidades normais de amoníaco e ácidos aminados.

Para essas determinações servimo-nos sempre de urinas de pessoas que nos pareciam não sofrer de qualquer doença, principalmente da nutrição.

Algumas são de alunos de Química Fisiológica; naquelas que êles traziam para os trabalhos de urologia laboratorial, fizemos a dosagem dalguns elementos normais e a pesquisa dos anormais e aproveitámos sómente as que não continham êstes últimos e continham os primeiros em quantidades regularmente equilibradas entre si. Aproveitámos ainda urinas de pessoas

de família, de conhecidos e algumas do Laboratório do Snr. Professor AGUIAR, mas tendo sempre em atenção que satisfizessem às condições acima citadas.

Outra coisa a que atendemos, foi a idade. Para evitar as diferenças que porventura haja na infância e na velhice, escolhemos de preferência pessoas entre os 20 e 30 anos ou que se afastassem pouco destes limites. Como se verá na tabela-resumo destes casos, apenas quatro se afastam sensivelmente dos limites marcados: um para menos, com quinze anos e meio; três para mais, com trinta e nove, quarenta e quarenta e sete anos.

Dos elementos normais doseados, os quais serviram para avaliar o seu equilíbrio relativo, apenas apresentamos os principais: acidez, ureia, ácido fosfórico e urobilina. Como relação destinada a dar ideia desse equilíbrio, apresentamos também a relação fosfo-ureica.

2.º — ELEMENTOS E RELAÇÕES QUE DETERMINAMOS

Dos elementos próprios do assunto deste trabalho, azoto aminado, amoniacal e do formol, determinámos as suas quantidades por litro, que julgamos inútil apresentar aqui, e as quantidades por 24 horas, que

se podem ver no quadro. Apresentamos também os números correspondentes à unidade coeficiente urológico, para sabermos qual é o *quantum* de eliminação relativa. O coeficiente urológico foi calculado pela fórmula

$$c = \frac{\frac{4A}{10} + P + \frac{I-30}{2}}{2}$$

em que *A* representa a altura reduzida a centímetros, *P* o peso e *I* a idade.

Além disso estabelecemos relações de algumas dessas substâncias entre si ou com outros elementos normais. Vejamos qual foi o critério que nos levou a procurar essas relações:

Relação dos ácidos aminados para a ureia— Como o azoto ureico provém do azoto aminado, quizemos saber que fracção dêste último foge à transformação em ureia. Para isso estabelecemos duas relações: uma do azoto aminado para o azoto ureico e outra do primeiro para a ureia. O valor semiótico duma ou doutra relação é o mesmo, visto que a primeira se transforma na segunda se fôr multiplicada pelo factor constante $\frac{28}{60}$, que representa a percentagem do azoto na ureia.

O número obtido em qualquer destas relações não

representa exactamente a fracção de azoto aminado não ureificado, porque essas mesmas relações no sangue são muito diferentes das que se encontram na urina. Mas, como as variações destas acompanham as das primeiras, os valores dumas dão-nos indicações àcêrca das outras.

Relação do amoníaco para a acidez — Como já dissemos mais atrás, uma certa quantidade do amoníaco formado no organismo foge à transformação em ureia para ir neutralizar os ácidos formados na desassimilação. No estado normal, quanto maior fôr a acidez devida a êsses ácidos tanto maior será a quantidade de amoníaco empregada na sua neutralização. Por êsse motivo resolvemos estabelecer uma relação que nos desse a proporção entre os dois elementos.

Além da relação amoníaco-acidez, estabelecemos também a relação do azoto do formol para a acidez, que é mais fácil de determinar na prática, porque não obriga à dosagem separada do azoto amoniacal. É facto que as duas relações se não acompanham rigorosamente, porque nesta última também entra o azoto aminado; mas, atendendo a que por um lado a quantidade dêste azoto é pequena e por outro lado a sua percentagem para o do formol varia pouco, achamos

a relação do azoto do formol para a acidez suficiente para nos dar indicações na prática corrente.

Relação do azoto aminado para o azoto do formol—

Embora não tenhamos grande esperança em vir a tirar indicações desta relação, achamos interessante determiná-la, para sabermos que fracção do azoto do formol corresponde a cada uma das suas duas partes.

No quadro a seguir estão resumidos os resultados que obtivemos nas urinas aproveitadas.

QUADRO-RESUMO DOS RESULTADOS

Números	Nomes	Peso	Idade	Altura	Coeficiente urológ.	Volume de 24 h.	Densidade a 15°	Elementos normais por 24 h.				
								Acidez	Ureia	Ac. úrico	Ac. fosf.	Urob.
1	A.P.T.	71,5	18	1,665	66	1,580	1,0202	1,346	22,832	1,433	2,488	0,158
2	A.D.O.	58	22	1,650	60	1,640	1,0212	1,105	26,610	0,743	1,599	0,164
3	A.F.S.	61	20	1,700	62	1,360	1,0242	1,810	25,197	0,958	2,346	0,136
4	A.S.P.	58	19	1,700	60	1,300	1,0215	1,267	22,412	0,938	1 820	0,117
5	J.C.	56	21,5	1,620	58	1,180	1,018	1,173	17,842	0,516	1,475	0,004
6	A.O.V.	49	15,5	1,570	52	1,830	1,0183	1,363	26,119	0,615	1 921	0,146
7	S.M.O.	63	23	1,730	64	1,180	1,025	1,109	24,700	1,113	1,593	0,118
8	M.J.R.	59	21,5	1,680	61	1,340	1,0272	1,377	30,281	1,080	2,412	0,121
9	I.M.F.	60	20,5	1,660	61	2,120	1,0135	0,977	25,130	1,138	1,272	0,148
10	E.M.F.	62	28,5	1,720	65	1,950	1,0199	1,516	38,767	1,884	2,430	0,204
11	J.S.MF.	76	33	1,715	73	1,300	1,0288	1,521	34,201	0,961	2,444	0,130
12	D.R.M.	78,5	39	1,700	76	1,100	1,0239	1,551	20,099	0,666	1,727	0,110
13	A.O.	47	40	1,650	59	1,200	1,0199	1,128	17,832	0,444	1,092	0,180
14	A.M.G.	57	25	1,600	59	1,400	1,0245	1,515	28,775	1,176	1,792	0,140
15	E.A.F.	73	34	1,660	71	1,300	1,0157	1,278	22,554	0,785	1,620	0,180
16	G.C.C.	61	47	1,620	67	1,300	1,0269	1,625	30,914	1,227	2,195	0,130
17	F.M.G.	67	19,5	1,740	71	1,900	1,0214	2,022	34,533	1,277	2 489	0,190
Médias					64	26,400						

OBTIDOS EM URINAS NORMAIS

Azote do formol em miligramas						Relações o/o					
Por 24 horas			Por unid. de coef. urol.			N NH ₂ Ureia	N F Acid.	N NH ₂ N F	N NH ₂ N ur.	N NH ₃ Acid.	Fosf. Ureia
Amin. (N H ₂)	Amon. (N H ₃)	Total (F)	Amin. (N H ₂)	Amon. (N H ₃)	Total (F)						
176,96	663,6	840,56	2,681	10,055	12,736	0,77	62,4	21,0	1,66	49,3	10,9
195,16	574	769,16	3,252	9,567	12,819	0,73	69,6	25,4	1,57	51,9	6,0
133,28	818,72	952	2,150	18,205	15,355	0,53	52,6	14,0	1,13	45,2	9,3
145,6	546	691,6	2,427	9,100	11,527	0,65	54,5	21,0	1,39	48,1	8,1
132,16	487,34	619,5	2,115	7,797	9,912	0,74	52,8	21,3	1,59	41,5	8,2
115,29	589,26	704,55	1,938	9,903	11,841	0,44	51,6	16,4	0,95	48,2	7,5
73,34	389,22	462,56	1,146	6,082	7,228	0,30	41,7	16,1	0,64	35,0	6,4
140,7	609,7	750,4	2,306	9,995	12,301	0,46	54,4	18,7	1,00	44,3	8,0
89,04	385,84	474,88	1,460	6,325	7,785	0,35	48,6	18,7	0,76	39,5	5,6
156,97	647,33	804,3	2,415	9,959	12,374	0,40	53,0	19,5	0,87	42,7	6,3
118,3	635,2	773,5	1,621	8,975	10,596	0,34	50,9	15,3	0,73	43,1	7,1
100,1	408,1	508,2	1,317	5,370	6,687	0,50	32,8	19,7	1,07	26,5	8,5
117,6	428,4	546	1,993	7,261	9,254	0,66	48,4	21,5	1,41	38,0	6,1
225,4	754,6	980	3,820	12,790	16,610	0,78	64,7	23,0	1,68	49,8	6,2
100,8	491,4	592,2	1,420	6,921	8,341	0,45	46,3	17,0	0,96	38,4	7,2
145,6	618,8	764,4	2,173	9,236	11,409	0,47	47,0	19,0	1,01	38,1	6,9
172,9	505,4	678,3	2,435	7,118	9,553	0,50	33,5	15,5	1,07	25,0	7,1
137,6	563,1	700,7	2,157	8,803	10,960	0,53	51,5	19,6	1,146	40,86	7,4

Como se vê, a composição das urinas está razoavelmente equilibrada no que respeita às substâncias cujas quantidades normais são já conhecidas. A relação fosfò-ureica, que foi utilizada como pedra de toque para avaliar êsse equilíbrio, sofre algumas oscilações, é facto, mas a sua média é de 7,4; sendo 7,8 o número médio obtido pelo Professor AGUIAR na urina normal dos portugueses, vê-se que êstes casos, considerados em conjunto, podem ser tomados como normais sob o ponto de vista urológico.

3.º — ANÁLISE DOS RESULTADOS

Ácidos aminados — A quantidade média de azoto aminado é de 137,6 miligramas por 24 horas, correspondendo a 2,157 miligramas por unidade de coeficiente urológico; a relação para o azoto ureico é de 1,146 ‰.

Se tomarmos para ponto de partida a ureia eliminada normalmente por um indivíduo de coeficiente 64 (coeficiente médio dos casos observados) vemos que êstes números não são concordantes. Assim, a 1,146 ‰ do azoto ureico corresponderá a quantidade de 2,575 miligramas de azoto aminado por unidade de coeficiente urológico; nos nossos casos a média seria então $2,575 \times 64$, isto é, 164,8 miligramas por

24 horas. Há, portanto, uma diminuição de 27,2 miligramas, que corresponde a 16,5 % da quantidade teórica.

Qual dos dois números devemos tomar? Evidentemente que deve ser o que foi obtido a partir da relação azoto aminado-ureia, visto que nas urinas, mesmo normais, os números absolutos obtidos podem variar, e nós, nesses casos, avaliamos a composição urinária pelas relações, desde que as variações não sejam muito pronunciadas. Ora esta diminuição dos números absolutos está em relação com uma variação do mesmo sentido na quantidade de ureia, que tem como número médio 26,400 gramas, o que corresponde a 27,637 para um coeficiente 67, quando devia ser 32,266.

Se partirmos da quantidade de azoto aminado que corresponde à unidade de coeficiente, veremos que a sua quantidade por 24 horas, nos indivíduos de coeficiente 67 (coeficiente médio dos portugueses determinado pelo Prof. AGUIAR) é de 172,5 miligramas; para uma urina de volume equilibrado com os elementos dissolvidos (1,540 para coeficiente 67) a quantidade de azoto aminado por litro será de 112 miligramas.

A quantidade relativa de azoto aminado, que responde, como vimos, a 1,146 % do azoto ureico, aproxima-se bastante da que foi obtida por SIGNORELLI.

Êste autor diz que encontrou em urinas normais 1,09 a 1,30 de azoto aminado para 100 de azoto total. Se tivermos presente que o azoto urinário é quasi todo pertencente à ureia (cêrca de 85 % nos casos normais) vemos que os números não se afastam muito.

VON LEERSUM diz que o azoto aminado representa 2,7 a 7,7 % do azoto total; o número mínimo obtido por êsse autor é, portanto, maior que o dôbro dos que foram obtidos por SIGNORELLI e por nós. Esta enorme diferença é devida provávelmente ao método empregado por VON LEERSUM; nos trabalhos que fez nesse sentido empregava o método de PFAUNDLER, a nosso ver muito imperfeito, pois PFAUNDLER considera como azoto aminado todo o azoto urinário que não é precipitado pelo ácido fosfotúngstico nem dissociado pelo ácido fosfórico a quente.

Amoníaco — A quantidade média de amoníaco por 24 horas é 563,1 miligramas em azoto, o que corresponde, em NH^3 , a $563,1 \times \frac{17}{14}$, ou sejam 683,7 miligramas. Êstes números dão, para unidade de coeficiente urológico, respectivamente 8,803 e 10,688.

Se modificarmos a quantidade de amoníaco, seguindo o critério com que modificámos a do azoto aminado (as razões aqui são as mesmas), vemos que a sua quantidade por unidade de coeficiente urológico

fica sendo 10,5 miligramas em azoto e 12,75 em NH^3 , que correspondem respectivamente a 703,5 e 854,25 para coeficiente 67. Para uma urina de concentração normal (1540^{cc} para coef. 67) a quantidade por litro será 456,8 em azoto e 554,7 em NH^3 .

Os diferentes autores apresentam, como quantidades normais de amoníaco, de 400 miligramas a um grama por 24 horas. GAUTRELET diz que a sua quantidade normal média é de 11 miligramas por unidade de coeficiente urológico; êste número corresponde a 737 miligramas por 24 horas para coeficiente 67. Como se vê, os números que obtivemos estão de acôrdo como os dos outros autores.

A relação do azoto amoniacal para a acidez veio-nos igual a 40,86 %. Já dissemos atrás que nesta relação o azoto amoniacal pode ser substituído pelo azoto do formol, porque as variações dêste acompanham muito de perto as do primeiro. Esta última relação é igual a 51,5 %.

A relação mais racional nêste sentido seria entre o amoníaco e a acidez contra a qual êle foi lançado, isto é, entre o amoníaco e a soma — acidez actual + acidez neutralizada pelo amoníaco —. Essa relação ser-nos-ia dada pela fórmula

$$\frac{\text{amoníaco}}{\text{amoníaco} + \text{acidez}}$$

em que os números entrariam não em valor absoluto mas em equivalentes. A quantidade resultante daria a fracção da acidez dos produtos de desassimilação que foi neutralizada pelo amoníaco.

Vejamos como podemos chegar a determiná-la:

A relação do azoto amoniacal para a acidez é igual a 40,86 %, como já vimos; quer isto dizer que 40,86 de azoto amoniacal correspondem a 100 de acidez.

Nos casos que apresentamos, a acidez é expressa em ácido fosfórico anidro (P^2O^5) considerado como tetrabásico, pois a dosagem foi feita à fenolftaleína; nestas condições, o equivalente do ácido fosfórico será $\frac{142}{4} = 35,5$. Quanto ao amoníaco, como na relação está expresso em azoto, o seu equivalente é 14.

Sendo assim, a relação, que é de 40,86 %, será $40,86 \times \frac{35,5}{14} = 103,6$ em equivalentes, isto é, a 103,6 equivalentes de amoníaco correspondem 100 equivalentes ácidos à fenolftaleína.

A acidez da urina, se não fosse a neutralização parcial pelo amoníaco, seria a sua acidez actual somada com a que foi neutralizada por aquela base, isto é, seria de $100 + 103,6 = 203,6$ equivalentes ácidos, na neutralização dos quais só foram empregados 103,6 de amoníaco.

O amoníaco não ureificado neutraliza, portanto, $\frac{103,6}{203,6}$, ou sejam 50,88 % da acidez dos produtos de desassimilação.

Azoto do formol—As quantidades de azoto do formol, nos nossos casos, dão uma média de 700,7 miligramas; para coeficiente 67, segundo o critério que seguimos para os ácidos aminados e amoníaco, a quantidade por 24 horas será de 876 miligramas, o que corresponde a 13,075 por unidade de coeficiente urológico.

Do azoto do formol, 19,6 % pertencem aos ácidos aminados e o restante ao amoníaco; em números redondos, uma parte de azoto aminado para quatro de azoto amoniacal.

Na urina dá-se com estas substâncias o inverso do que se passa no sangue. Neste, é maior a quantidade de ácidos aminados, ao passo que na urina predomina o amoníaco. O rim, portanto, elimina o amoníaco com maior intensidade que os ácidos aminados. Êste facto é devido, sem dúvida, a que o amoníaco é todo destinado a ser eliminado, como a ureia, o que não se dá com os ácidos aminados.

Das experiências realizadas por DESQUEIROUX e por DELAUNAY, atrás citadas, vê-se que as quantidades de

ácidos aminados e amoníaco no sangue são em média, respectivamente, 50 a 60 e 8 a 12 miligramas por litro, em azoto. Ora nós vimos que, nas urinas de volume normal, os números correspondentes são 112 e 456,8 miligramas por litro. Pelo confronto dêstes números pode avaliar-se o poder de concentração do rim para as substâncias correspondentes. Esse poder, para o amoníaco, é de 40 a 45, isto é, pouco mais ou menos o da ureia; o do azoto aminado, se partirmos dos números de DESQUEIROUX e de DELAUNAY, é de cerca de 2, e se partirmos dos que foram obtidos por GORCHKOFF, GRIGORIEFF e KOUTOURSKY, que encontraram nos indivíduos normais 120 a 130 miligramas por litro de sangue, vem-nos o poder de concentração para o azoto aminado igual a um pouco menos que a unidade.

O AZOTO AMINADO E AMONIAICAL
DA URINA EM ALGUNS ESTADOS
PATOLÓGICOS

Têm-se notado variações da quantidade de azoto aminado e amoniacal, tanto no sangue como na urina, em alguns estados patológicos e até em estados fisiológicos especiais.

VAN SLYKE notou que a quantidade de ácidos aminados no sangue aumenta na atrofia amarela aguda do fígado; é fácil acreditar que êste aumento deve provocar um aumento correspondente na urina.

DESQUEIROUX, por seu lado, verificou que o azoto aminado da urina dos animais aumenta nos casos de intoxicação fosforada aguda experimental. Êstes resultados estão de acôrdo com os que SIGNORELLI já tinha observado há mais tempo em casos semelhantes.

Segundo êste último autor, que estudou as suas

variações em alguns casos fisiológicos, há uma diminuição do mesmo azoto nos indivíduos que sobem a grandes altitudes, sobretudo durante os esforços da ascensão.

Por outro lado, VON LEERSUM encontrou um aumento do azoto aminado urinário durante a gravidez. É verdade que VON LEERSUM empregava nos seus trabalhos o método de dosagem de PFAUNDLER, e este método, como já dissemos mais atrás, é muito grosseiro; mas, como os números foram confrontados com os normais obtidos pelo mesmo método, é muito provável que os resultados apresentados correspondam à realidade.

Em vista desses factos, resolvemos analisar urinas em outros casos patológicos para vermos se encontramos diferenças dignas de menção.

1.º — URINAS DE TUBERCULOSOS

A — ESCOLHA DE DOENTES E RESULTADOS OBTIDOS

Servimo-nos de doentes internados no Hospital de Santo António, nas duas salas de tuberculosos.

Em todos esses doentes a tuberculose estava diagnosticada pelos seus sintomas clínicos e esse

diagnóstico confirmado pelo exame bacteriológico da expectoração.

Nas urinas, todas elas correspondentes a períodos de 24 horas, doseámos os mesmos elementos que tínhamos doseado nos casos normais; contudo, apresentamos só os elementos que são precisos para as relações que procurámos determinar, porque os outros não têm interesse.

Das relações, não determinámos todas as que foram apresentadas nos casos normais, porque isso nos pareceu desnecessário; as três que estão no quadro-resumo dispensam as outras duas. Mas, para que soubessemos o valor dessas duas, consideradas em conjunto, determinámo-las pelas médias das quantidades obtidas para os elementos correspondentes.

Os resultados obtidos para cada caso, assim como as suas médias, encontram-se resumidos no quadro a seguir.

URINAS DE TUBERCULOSOS

N.º	Nome	Volume	Acidez de 24 horas	Ureia de 24 horas	N do form. em mgr. por 24 horas			Relações		
					N NH ₂	N NH ₃	N F	N NH ₂	N F	N NH ₂
								Ureia	Acid.	N F
1	F. F.	900	0,574	17,635	126	655,2	781,2	0,71	136,0	16,1
2	A. S.	700	0,857	16,500	78,4	470,4	548,8	0,47	64,0	14,3
3	R. N.	1300	0,853	19,369	145,6	418,6	564,2	0,75	66,2	25,8
4	J. G.	1800	1,534	23,130	88,2	428,4	516,6	0,38	33,7	17,0
5	M. C.	1350	0,670	15,659	198,45	652	850,5	1,27	126,9	23,3
6	O. C.	1000	0,656	10,310	63	301	364	0,61	55,5	17,3
7	C. C.	500	0,842	19,181	91	301	392	0,49	46,5	23,2
8	T.	850	0,724	7,608	95,2	261,8	357	1,25	49,3	26,7
9	M.	275	0,332	5,775	30,8	238,7	269,5	0,53	81,2	11,4
10	D. A.	500	0,692	7,810	24,5	161	185,5	0,31	26,8	13,2
11	A. V.	400	0,745	12,109	47,6	439,6	487,2	0,39	65,4	9,8
12	J. M. M.	1400	1,142	22,233	88,2	382,2	470,4	0,40	41,2	18,7
13	E. C.	700	0,969	17,350	98	343	441	0,56	45,5	22,2
14	J. C.	1200	0,767	9,040	58,8	428,4	487,2	0,65	63,5	12,1
15	A. S. C.	700	0,994	13,948	33,3	235,2	318,5	0,60	32,0	26,2
16	A. G.	1100	0,312	13,335	53,9	169,4	223,3	0,40	71,5	24,1
17	J. P.	1100	0,468	9,900	92,4	308	400,4	0,93	85,4	23,1
18	J. A.	400	0,582	12,123	47,6	425,4	476	0,39	81,8	10,0
19	A. C.	700	0,832	14,766	93,1	377,3	470,4	0,63	56,5	19,8
20	D. G.	800	0,610	6,026	33,6	313,6	347,2	0,56	56,9	9,7
Médias			0,758	13,690	81,88	365,66	447,54	0,614	64,3	18,2

B—ANÁLISE DOS RESULTADOS

Ácidos aminados— Os números absolutos do azoto aminado são, como se vê, muito discordantes e a sua média está muito abaixo da normal. Mas é preciso notar que êstes doentes, estando em repouso, naturalmente que hão-de ter uma baixa na sua desassimilação.

Com efeito, a média da ureia é de 13,690 gramas por 24 horas, isto é, cêrca de metade da que encontramos nos casos normais. Isto faz com que a relação do azoto aminado para a ureia se afaste pouco da quantidade normal.

É facto que a média desta relação nas urinas de tuberculosos é de 0,614 para 0,53 nos casos normais; mas se tirarmos os casos 5 e 8, em que as relações são exageradas e sobem muito acima das dos outros, veremos que a média desce para 0,54, número êste que se aproxima muito do normal.

Amoníaco— Os números obtidos são inferiores ao normal, como nos ácidos aminados, mas as razões apresentadas quando tratamos dêstes últimos applicam-se também ao amoníaco. Portanto, serão as relações que nos dirão se na verdade há diminuição de amoníaco ou se a diminuição absoluta é justificada pela dimi-

nuição dos elementos que estão em relação com essa substância.

Nos já dissemos, a propósito das urinas normais, que o amoníaco aumenta com a acidez, e estabelecemos até a relação normal entre os dois elementos.

Dissemos também que podíamos substituir a relação $\frac{\text{azoto amoniacal}}{\text{acidez}}$ por outra mais fácil de determinar: $\frac{\text{azoto do formol}}{\text{acidez}}$.

Ora a média desta última relação nas urinas de tuberculosos é de 64,3 para 51,5 nos casos normais. Se fizermos a relação da média do amoníaco para a da acidez, obtemos o número 48,2 quando o normal é 40,86.

Como se vê, o aumento relativo de amoníaco é manifesto.

Se multiplicarmos esta relação por $\frac{35,5}{14}$, como fizemos nos casos normais, vemos que se transforma no número 122,2—que representa a mesma relação em equivalentes, isto é, a 100 equivalentes ácidos correspondem 122,2 equivalentes de amoníaco. O amoníaco neutraliza, portanto, $\frac{122,2}{122,2 + 100}$ da acidez dos produtos de desassimilação, ou sejam 55 %, ao passo que no estado normal neutraliza apenas 50,88 %, como já vimos.

Este aumento relativo do amoníaco não quer dizer que o organismo dos tuberculosos tenha maior poder de neutralização para os ácidos do que o organismo normal. A nosso ver, deve atribuir-se antes a uma diminuição da função ureiogénia do que a um aumento do poder neutralizante. Com efeito, se fizermos a relação do azoto do formol para o da ureia (relação entre as médias respectivas), veremos que ela é de 7,0 quando a mesma relação nos casos normais e operando pela mesma técnica é de 5,7 apenas (o Prof. AGUIAR encontrou como normal 4,4).

Relação entre as duas formas de azoto do formol—

Esta relação é de 18,2. Há, portanto, um abaixamento em comparação com o número normal, que é de 19,6. Esta diferença pode ser devida a um abaixamento do azoto aminado ou a um aumento do do formol.

Se nos recordarmos das relações anteriores, concluiremos que é à segunda das hipóteses que devemos atribuir essa diferença. Com efeito, a quantidade relativa de azoto do formol está aumentada (relação do azoto do formol para a acidez) e este aumento é tanto mais importante quanto é certo que se sobrepõe ao que também se observa no azoto aminado (aumento de relação do azoto aminado para a ureia).

2.º — URINAS DE DIABÉTICOS

A — ESCOLHA DE DOENTES E RESULTADOS OBTIDOS

Além das análises de urinas de tuberculosos, fizemos muitas outras, aproveitando todos os casos que nos apareciam, com o fim de ver se encontrávamos qualquer diferença que nos chamasse a atenção para o estado patológico correspondente.

As urinas analisadas eram do Laboratório Nobre e do Laboratório do Prof. AGUIAR. Em 180 doseámos o azoto aminado e amoniacoal, cujas quantidades obtivemos por litro, por 24 horas e por unidade de coeficiente urológico; analisámos mais 285, em que determinámos apenas o azoto do formol por litro. Portanto, além das normais e das de tuberculosos, de que já nos ocupámos, analisámos 465 urinas.

Os números obtidos nas primeiras 180 urinas deram as seguintes médias:

	Por litro	Por 24 horas	Por unidade de coef. urol.
Azoto aminado	76,1	95,2	1,142
Azoto amoniacoal	389,5	489,7	7,375
Azoto do formol	465,6	584,9	8,817

As médias são inferiores às normais; mas isso não

deve ser tomado em conta, em vista da dieta hipoazotada a que estão submetidos os doentes que padecem de nefrite azotêmica, dos quais há alguns entre os casos observados.

Vejamos agora o que nos dão as relações, que têm uma significação mais precisa.

	Médias obtidas	Normal
$\frac{\text{N aminado}}{\text{ureia}}$	0,44	0,53
$\frac{\text{N formol}}{\text{acidez}}$	41,0	51,5
$\frac{\text{N aminado}}{\text{N formol}}$	16,3	19,6

Como se vê claramente, todas estas relações estão diminuídas, sendo a diminuição um pouco mais sensível na segunda, do azoto do formol para a acidez.

Começamos então a percorrer todos os casos e a separar aqueles em que essas diminuições predominavam, porque deviam ser esses os causadores da diminuição observada nas médias. Até esta data só pudemos relacionar o abaixamento da segunda relação (azoto do formol para a acidez) com os casos de diabetes, muito embora já tenhamos indícios de mais variações em outros estados patológicos.

Em vista disso, separámos todos os casos conhecidos de diabetes, mas sómente aqueles em que a glicosúria é franca. Como se verá nos quadros respectivos, só um caso, o número 50, tem menos de 2 grammas; os outros são todos desta quantidade para cima.

Os quadros em que estão resumidos os resultados são dois. O primeiro, em cujas urinas doseámos o azoto aminado e o do formol e determinámos três relações, compreende 22 casos; quanto ao segundo, em que doseámos só o azoto do formol e determinámos a relação dêste para a acidez, consta de 28 casos. Portanto, são ao todo 50 casos de diabetes.

URINAS DE DIABÉTICOS — 1.º QUADRO

N.º	Nomes	Acidez por 24 horas	Ureia por 24 horas	N do formol em mgr. por 24 horas		Relações			Glucose em 24 horas
				N NH ₂	N F	N NH ₂	N F	N NH ₂	
						Ureia	Acid.	N F	
1	C. M.	1,550	27,033	53,2	692	0,20	44,6	7,7	302,998
2	J. J. F.	4,612	51,240	224	1708	0,44	37,0	13,1	192,000
3	J. R.	3,120	40,128	67,2	493	0,17	15,1	13,6	179,200
4	?	1,524	22,476	35	350	0,16	23,0	10,0	107,826
5	J. R. V.	2,350	35,895	210	472,5	0,58	20,1	44,4	74,560
6	M. C.	1,995	19,835	52,5	927,5	0,27	46,5	5,7	62,962
7	J. V. R.	1,799	21,214	196	735	0,92	40,8	26,7	56,599
8	M. P. B.	1,890	21,879	109	1183	0,50	62,6	9,2	55,250
9	M. C. S.	2,168	24,380	72,8	328	0,30	15,1	22,2	51,789
10	M. M.	1,676	24,608	99,75	703,5	0,40	42,0	14,2	37,500
11	M. S. P.	1,277	12,337	42	133	0,34	10,4	31,6	25,518
12	T. P.	2,421	33,744	115,5	1155	0,35	47,7	10,0	18,750
13	D. F.	3,280	22,350	280	735	1,25	22,4	38,1	13,380
14	M. M. B.	2,838	51,488	154	994	0,30	35,0	15,5	13,076
15	J. G. A.	0,784	18,516	71,4	714	0,38	91,1	10,0	10,138
16	N. M. C.	2,838	29,278	168	896	0,57	31,6	18,7	7,234
17	M. S. B.	2,270	23,702	154	826	0,65	36,4	18,6	5,000
18	E. L. P.	1,205	14,805	98	336	0,66	27,9	29,2	4,305
19	B. F. G.	1,325	11,383	76	485	0,67	36,6	15,6	3,557
20	J. S.	1,795	30,512	92,4	785	0,30	43,7	11,0	3,383
21	M. P.	1,521	21,350	154,7	555	0,72	36,5	27,9	3,181
22	E. C.	1,937	24,208	84	546	0,35	28,2	15,4	2,598
Médias				118,6	711,5	0,476	36,1	18,6	

URINAS DE DIABÉTICOS — 2.º QUADRO

N.º	Acidez por litro	N F por litro	N F		Glucose por 24 horas	N.º	Acidez por litro	N F por litro	N F		Glucose por 24 horas
			Acid.						Acid.		
23	1,259	210	16,7		140,705	37	1,437	280	19,5		25,014
24	1,774	462	26,0		124,384	38	0,352	224	26,3		22,861
25	0,887	392	44,2		123,428	39	1,046	350	35,5		19,368
26	0,514	70	13,6		121,200	40	1,117	294	26,3		18,750
27	1,257	252	20,0		91,543	41	1,738	560	32,2		15,526
28	1,064	210	19,7		78,200	42	1,023	252	24,5		15,044
29	0,567	140	24,7		75,555	43	0,922	126	13,7		8,424
30	1,419	236	23,6		66,666	44	1,296	392	30,3		7,995
31	1,578	308	19,5		57,750	45	2,093	490	23,4		5,000
32	1,401	266	19,0		57,665	46	2,661	364	13,7		3,400
33	1,738	392	22,5		36,755	47	1,827	616	33,7		3,250
34	2,138	490	22,9		36,428	48	0,958	210	21,9		3,150
35	1,206	294	24,4		35,913	49	1,473	532	36,1		2,000
36	1,685	686	40,7		32,710	50	2,075	434	20,9		1,200

Média da relação $\frac{\text{N formol}}{\text{acidez}} = 24,8$

B—ANÁLISE DOS RESULTADOS

Azoto aminado—Vimos nas 180 análises que fizemos com dosagem do azoto aminado que a quantidade média d'este elemento era de 95,2 por 24 horas, ao passo que nas urinas normais é de 137,6.

Pelos resultados obtidos nas urinas de diabéticos, em que essa quantidade é igual a 118,6 por 24 horas, vê-se que não é devida a estas a diminuição que se nota nas primeiras. Em todo o caso, há uma leve diminuição, que é confirmada pela relação do azoto aminado para a ureia, que nos aparece com a média de 0,476 para um normal de 0,53.

Azoto do formol—A quantidade de azoto do formol está muito levemente aumentada. É igual a 711,5 miligramas por 24 horas, quando o número normal é de 700,7. Mas, se tomarmos em linha de conta a diminuição do azoto aminado, vemos que o aumento relativo do azoto do formol é muito sensível. Por êsse motivo, a relação do azoto aminado para o do formol está abaixo do número normal; a diminuição é devida ao mesmo tempo à diminuição do numerador e ao aumento do denominador.

Mas a variação mais notável é a que se verifica

na relação da acidez. Esta relação, nos indivíduos normais, é de 51,5 %, como vimos. Nos casos de diabetes verificamos o seguinte: nas urinas do primeiro quadro essa relação é de 36,1 % e nas do segundo desce ainda mais abaixo, a 24,8. A média nas 50 urinas analisadas é de 29,8.

Se percorrermos os números que essa relação tem em cada caso, verificamos que só em dois ela é superior à normal: no n.º 8, em que é 62,6 e n.º 15, em que é muito elevada, pois atinge 91,1.

Apesar destas duas excepções, podemos afirmar que a relação, duma maneira geral, diminui nos diabéticos, porque êsses dois casos, entre cincoenta examinados, representam apenas 4 % do total; a diminuição verifica-se, portanto, em 96 % dos casos observados.

Já de há muito tempo se conhece o aumento de azoto amoniacal na diabetes. O mecanismo atribuído a êste aumento é o seguinte: na diabetes, por oxidação incompleta dos ácidos gordos, formam-se corpos acetónicos (ácido β -oxibutírico, ácido acetil-acético e acetona) que aumentam a acidez do meio interno; para combater essa acidez o organismo neutraliza-a com amoníaco, que não é, portanto, ureificado.

Contudo, o aumento do amoníaco não acompanha

em proporção o da acidez, porque, se assim fosse, a relação amoníaco-acidez não diminuiria, como sucede nos casos que apresentamos.

A diminuição da relação do amoníaco para a acidez corresponde, como é fácil de supôr, à pequena percentagem da acidez dos produtos de desassimilação que foi neutralizada pelo amoníaco. Já vimos que esta percentagem nos casos normais é, em média, de 50,88. Nos primeiros 22 casos de diabéticos, em que fizemos a dosagem do azoto aminado e amoniacal, se fizemos o cálculo do amoníaco em equivalentes e o relacionarmos com a acidez, como fizemos para os casos normais e de tuberculosos, vemos que o coeficiente de neutralização é 43,3 %, isto é, para 100 equivalentes de acidez formada no organismo, só 43,3 são neutralizados pelo amoníaco não ureificado.

VI

CONCLUSÕES

1.º—RELATIVAS À TÉCNICA DA DOSAGEM DOS ÁCIDOS AMINADOS E AMONÍACO

1.º—O método do formol é o melhor e mais prático para a dosagem do azoto aminado e amoniacal.

2.º—A dosagem dos ácidos aminados por diferença é pouco precisa; é-lhe preferível a dosagem directa.

3.º—Os métodos de dosagem directa dos ácidos aminados após precipitação do amoníaco não dão resultados exactos: ou não precipita todo o amoníaco ou precipita também uma parte dos ácidos aminados.

4.º—A cal e a barita libertam todo o amoníaco da urina e não têm acção sobre o azoto aminado.

5.º—Entre as bases mais próprias para a liber-

tação do amoníaco urinário, a barita é aquela cujo emprego é mais prático.

2.^o — RELATIVAS À AMONIÚRIA
E AMINÒ-ACIDÚRIA NORMAIS

1.^a — A percentagem de azoto aminado, nas urinas de volume equilibrado, é de 112^{mgr.} por litro; para coeficiente 67 a eliminação diária é de 172,^{mgr.}5, o que dá 2,^{mgr.}575 por unidade de coeficiente urológico.

2.^a — A relação do azoto aminado para a ureia é de 0,53 %; a do azoto aminado para o azoto ureico é de 1,146 %.

3.^a — A quantidade de azoto amoniacal, nas urinas de volume equilibrado, é de 456,^{mgr.}8 por litro; para coeficiente 67 a eliminação diária é de 703,^{mgr.}5, o que dá 10,^{mgr.}5 por unidade de coeficiente urológico.

4.^a — A relação do azoto amoniacal para a acidez é de 40,86 % e a do azoto do formol para a acidez é de 51,5 %, quando a acidez é doseada à fenolftaleína e expressa em ácido fosfórico anidro.

5.^a — O amoníaco neutraliza cerca de metade da acidez gerada no organismo pelos produtos de desassimilação.

6.^a — A uma parte de azoto aminado correspondem cerca de quatro de azoto amoniacal.

7.^a—O poder de concentração do rim para o amoníaco é mais ou menos o mesmo que para a ureia; os ácidos aminados parece que não são concentrados.

3.^o—RELATIVAS À AMONIÚRIA E AMINÒ- -ACIDÚRIA NOS TUBERCULOSOS

1.^a—A relação aminò-ureica está levemente aumentada.

2.^a—A relação do azoto do formol para a acidez aumenta duma maneira sensível.

3.^a—Na acidez dos produtos de desassimilação, a fracção que é neutralizada pelo amoníaco é maior que nos casos normais.

4.^a—O azotò amoniacal está levemente aumentado em relação ao dos ácidos aminados.

4.^o—RELATIVAS À AMONIÚRIA E AMI- NÒ-ACIDÚRIA NOS DIABÉTICOS

1.^a—A relação aminò-ureica está levemente diminuída.

2.^a—A quantidade de amoníaco é maior que nos casos normais.

3.^a—O aumento da quantidade de amoníaco é muito menos acentuado que o da acidez; por isso, a

relação do azoto do formol para acidez está muito diminuída.

4.^a—O amoníaco empregado pelo organismo em neutralizar a acidez dos produtos de desassimilação é em proporção menor que no estado normal.

5.^a—O azoto amoniacal está levemente aumentado em relação ao dos ácidos aminados.

VISTO

Alberto de Aguiar.

PRESIDENTE

PODE IMPRIMIR-SE

Lopes Martins.

DIRECTOR

BIBLIOGRAFIA

ABDERHALDEN e RONA — Nouvelle contribution à l'étude de l'assimilation des matières albuminoïdes dans l'organisme animal — *Zeit. phys. Chem.* t. 47, pag. 397 — 25/4/1906. In *B. S. Ch. de France* t. 36 — 1906, pag. 1412.

ABDERHALDEN e SCHITTENHELM — Sur la teneur de l'urine humaine normale en acides aminés — *Zeit. phys. Chem.* t. 47, pag. 339 — 25/4/1906. In *B. S. Ch. de France* t. 36 — 1906, pag. 1409.

ABDERHALDEN e TERUCHI — Sur la regression de quelques acides aminés et de quelques peptides dans l'organisme du chien — *Zeit. phys. Chem.* t. 47, pag. 159 — 17/3/1906. In *B. S. Ch. de France* t. 36 — 1906, pag. 1399.

AGUIAR — Questões de urologia.

BANG — Sur la résorption et l'assimilation de l'albumine et des amino-acides — *Biochem. Zeit.* t. 74, pag. 278 — 1916. In *B. S. Ch. de France* t. 24-1918, pag. 461.

BITH — À propos du dosage des acides aminés — *C. R. Soc. Biol.* t. 1.^o, pag. 112 — 1914.

BOURNIGAUULT e BITH — Méthode de dosage des acides aminés dans l'urine et le sérum sanguin — *C. R. Soc. Biol.* t. 1.^o, pag. 114 — 1914.

CAMBIER e BROCHET — Action de l'aldehyde formique sur les amines et sur leurs sels — *B. S. Ch. de France* — 1895, pag. 392.

CARRACIDO — Tratado de Química Biologica — 1917.

CATHGART — The Physiology of Protein Metabolism — 1912.

CLÉMENTI — Sur la possibilité de titrer au formol le groupe aminé monosubstitué des amino-acides — *At. Ac. dei Lincei* t. 24 (1) pag. 352 — Março de 1915. In *B. S. Ch. de France* t. 18 — 1915, pag. 784.

DELAUNAY — Sur la répartition de l'azote restant du sang e du liquide cavitare de quelques invertébrés — *C. R. Soc. Biol* — 1913 — t. 1.^o, pag. 151.

DELAUNAY — Sur le dosage de l'azote restant dans le sang de vertébrés — *S. R. Soc. Biol* — 1913, t. 1.^o, pag. 639.

DELAUNAY — Sur l'azot restant du plasma de quelques vertébrés — *C. R. Soc. Biol* — 1913 — 1.^o, pag. 641.

DELAUNAY — Sur l'azote restant du sang avant et pendant l'absorption intestinale de l'azote alimentaire — *C. R. Soc. Biol.* — 1913 — t. 1.^o, pag. 767.

DELAUNAY — Sur l'azote restant du sang avant et pendant l'absorption d'une mélange d'acides aminés introduite dans l'intestin — *C. R. Soc. Biol* — 1913.

DELÉPINE — Comunicação à *Sociedade Química de França*, sessão de 25/1/1895 — *B. S. Ch. de France* — 1895, pag. 163.

DESQUEIROUX -- Sur les troubles des échanges azotées dans l'intoxication phosphorée aiguë expérimentale — *C. R. Soc. Biol.* — 1922 - t. 1.^o, pag. 143.

DESQUEIROUX — Recherches cliniques sur l'amino-acidémic — *An. Méd.* — t. 13 — n.^o 1 — Janeiro de 1923, pag. 20.

ERLENMEYER — Sur une réaction général des acides α -aminés du type $R.CH(NH_2).CO_2H$ — *Ber. chem. Ges.* — t. 3.^o, pag. 2596 — 13/12/1897. In *B. S. Ch. de France* t. 20 — 1898, pag. 213.

FORSSNER — Sur la présence d'acides aminés libres dans l'urine et sur la recherche de ces composés — *Zeit. phys. Chem.* t. 47, pag. 15 — 10/2/1906. In *B. S. Ch. de France* t. 36 — 1906, pag. 1393.

FREY e GIGON — Sur le dosage de l'azote des amino-acides dans l'urine par le litrage au formol — *Biochem. Zeit.* t. 22, pag. 309 — 1909. In *B. S. Ch. de France* t. 10 — 1911, pag. 126.

GAUTRELET — La pratique des manipulations urologiques — 1918.

GORCHKOFF, GRIGORIEFF e KOUTOURSKY — Contribution à l'étude de l'azote et des amino-acides du sang de l'homme dans certaines conditions physiologiques et pathologiques — *C. R. Soc. Biol.* 1914, t. 1.^o, pag. 454.

HENRIQUES e ANDERSEN — Sur la nutrition parenterale par injection intraveineuse — *Zeit. phys. Chem.* t. 88, pag. 357 — Novembro de 1913. In *B. S. Ch. de France* t. 20 — 1916, pag. 438.

HUGOUNENQ e MOREL — Comunicação à *Sociedade Química de França*, sessão de 23/12/1908. *B. S. Ch. de France* 1909, pag. 130.

DE JAGER — Contribution à la chimie de l'urine — *Zeit. phys. Chem.* t. 62, pag. 333 — Setembro de 1909. In *B. S. Ch. de France* — 1910, pag. 1029.

LAMBLING — Précis de Biochimie — 1911.

LANZENBERG — À propos du dosage des acides aminés. *C. R. Soc. Biol.* t. 2.^o — 1913, pag. 708.

LECLÈRE — Dosage de l'ammoniaque urinaire — *C. R. Soc. Biol.* — 1917, pag. 959.

LEMATTE — Séparation et dosage volumétrique de l'urée et de l'ammoniaque urinaires — *C. R. Soc. Biol.* t. 1.^o, 1913 — pag. 217.

LEMATTE — Dosage des acides aminés dans l'urine. *C. R. Soc. Biol.* t. 1.^o — 1913, pag. 280.

VON LEERSUM — L'excrétion d'acides aminés pendant la grossesse et après l'accouchement — *Biochem. Zeit.* t. 11 — Junho de 1908, pag. 121. In *B. S. Ch. de France* t. 6 — 1910, pag. 605.

LEVENE e BEATTY — Sur la précipitation des acides aminés par l'acide phosphotungstique — *Zeit. phys. Chem.* t. 47 — 17/3/1906, pag. 149-150. In *B. S. Ch. de France* t. 36 — 1906, pag. 1398.

LOMBROSO — Sur le métabolisme des amino-acides dans l'organisme — *At. Ac. dei Lincei* t. 24(2) — Novembro de 1915, pag. 401. In *B. S. Ch. de France* t. 20 — 1916, pag. 413.

LOMBROSO e ARTOM — Sur le destin des acides aminés conte-

nus dans la lumière ou la muqueuse de l'intestin — *At. Ac. dei Lincei* t. 24(1) — Maio de 1915, pag. 863. In *B. S. Ch. de France* t. 18 — 1915, pag. 826.

LOMBROSO e ARTOM — Action du tissu hépatique sur les acides aminés ajoutés au sang circulant — *At. Ac. dei Lincei* t. 24(1) — Junho de 1915, pag. 1166. In *B. S. Ch. de France* t. 18 — 1915, pag. 826.

LOMBROSO e PATERNI — Sur le métabolisme des amino-acides circulant dans le muscle en fonction — *At. Ac. dei Lincei* t. 24(1) — Maio de 1915, pag. 870. In *B. S. Ch. de France* t. 18 — 1915, pag. 826.

MAILLARD — Sur le virage de la phénolphtaléine dans le dosage des acides aminés par la méthode au formol — *C. R. Soc. Biol.* t. 1.^o — 1914, pag. 809.

MALFATTI — Le tritage des acides aminés à l'aide du formol. — *Zeit. phys. Chem.* t. 61 — Setembro de 1909, pag. 499. In *B. S. Ch. de France* t. 8 — 1910, pag. 682.

MESTREZAT — Formol-titration des acides aminés en solution aqueuse ou dans l'urine. *B. S. Ch. Biol.* t. 1 — Outubro de 1919, pag. 107. In *B. S. Ch. de France* t. 27 — 1920, pag. 518.

MOOG — Le dosage de l'ammoniaque par la méthode de Schlösing — *S. R. Soc. Biol.* t. 1.^o — 1922 — pag. 709.

MULLIKEN — Identification of Pure Organic Compounds — 1916.

NEUBERG - Der Harn sowie die übrigen Ausscheidungen und Körperflüssigkeiten - 1911.

PFAUNDLER - Sur un procédé de détermination des acides amidés dans l'urine. *Zeit. phys. Chem.* t. 30 - 16/8/1900, pag. 75. In *B. S. Ch. de France* 1901, pag. 333.

RONCHÈSE - Nouveau procédé de dosage de l'ammoniaque - *B. S. Ch. de France* - 1907, pag. 900.

RONCHÈSE - Guide pratique pour l'analyse des urines - 1921.

SAMUELLY - Sur la question des acides aminés dans l'urine normale et pathologique - *Zeit. phys. Chem.* t. 47 - 25/4/1906 pag. 376. In *B. S. Ch. de France* t. 36 - 1906, pag. 1411.

SIGNORELLI - L'élimination des acides aminés par l'urine sous l'influence de l'effort aux hautes altitudes. *Biochem. Zeit.* t. 39 - Março de 1912, pag. 36. In *B. S. Ch. de France* t. 14 - 1913, pag. 148.

SIGNORELLI - Rapports entre l'azote aminé et l'azote total dans l'urine dans diverses conditions physiologiques et pathologiques. *Biochem. Zeit.* t. 47 - Dezembro de 1912. In *B. S. Ch. de France* t. 14 - 1913.

VAN SLYKE - Méthode de détermination quantitative des groupes aminés aliphatiques - *Ber. chem. Ges.* t. 43 - Novembro de 1910, pag. 3170. In *B. S. Ch. de France* t. 10 - 1911, pag. 1199.

VAN SLYKE - Détermination des groupements aminés dans les

composés aminés et dans l'urine. *Ber. chem. Ges.* t. 44 - Julho de 1911, pag. 1684. In *B. S. Ch. de France* t. 12 - 1912.

SORENSEN - Études enzymatiques - *C. R. Lab. Carl.* 7.^o volume, 1.^o fascículo - 1907.

UNDERHILL - *The Physiology of the Amino Acides* - 1915.

ABREVIATURAS

<i>An. Méd.</i>	<i>Annales de Medecine</i>
<i>At. Ac. dei Lincei</i>	<i>Atti della reale Accademia dei Lincei</i>
<i>B. S. Ch. Biol.</i>	<i>Bulletin de la Société de Chimie Biologique</i>
<i>B. S. Ch. de France</i>	<i>Bulletin de la Société Chimique de France</i>
<i>Ber. chem. Ges.</i>	<i>Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft</i>
<i>Biochem. Zeit.</i>	<i>Biochemische Zeitschrift</i>
<i>C. R. Lab. Carl.</i>	<i>Comptes-Rendus des travaux du Laboratoire de Calsberg</i>
<i>C. R. Soc. Biol.</i>	<i>Comptes-Rendus de la Société de Biologie</i>
<i>Zeit. phys. Chem.</i>	<i>Zeitschrift für physiologische Che- mie</i>