



24/3/51

RENDICONTI DELLA R. ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
Classe di Scienze fisiche, matematiche e naturali.

Estratto dal vol. XXIII, serie 6^a, 1^o sem., fasc. 6. - Roma, marzo 1936-XIV.

Fisiologia. — *Fenomeni di ossido-riduzione e stati di attività funzionale del neurasse⁽¹⁾.* Nota di M. MITOLO, presentata⁽²⁾ dal Corrisp. S. BAGLIONI.

Sebbene la dottrina delle ossido-riduzioni abbia avuto largo sviluppo e sia stata feconda di interpretazioni e di applicazioni nello studio della respirazione interna e del metabolismo intermedio dei tessuti, non sono numerosi, a tutt'oggi, i dati sperimentali sull'andamento dei processi ossido-riduttivi in rapporto ai diversi stati funzionali di un tessuto o di un organo. Accenni alla soluzione del problema si trovano nei lavori di Lipschitz e Collaboratori⁽³⁾, i quali, con esperimenti eseguiti soltanto *in vitro*, hanno studiato la riduzione di nitrocomposti (particolarmente del m-dinitrobenzolo) operata da poltiglie di tessuti, in diverse condizioni sperimentali. Risultò dalle ricerche degli AA. che la riduzione del m-dinitrobenzolo a m-nitrofenilidrossilammina è legata alla respirazione cellulare; tutte le condizioni che tendono a far aumentare l'intensità dei processi respiratori della cellula elevano pure l'intensità e la velocità di riduzione del nitrocomposto, e viceversa i narcotici, l'acido cianidrico e gli altri mezzi atti a ridurre la respirazione cellulare inibiscono la riduzione del m-dinitrobenzolo (Lipschitz e Gottschalk⁽⁴⁾). Secondo Comel⁽⁵⁾, la riduzione del nitrocomposto, operata da poltiglie di muscoli di rana, è una funzione della concentrazione degli idrogenioni del mezzo ambiente, nel senso che si attenua con l'abbassarsi del pH, rispetto all'*optimum* che si riscontra vicino alla neutralità; se è vero che il ricambio gasoso dei tessuti ha analogo comportamento, non si può dire, tuttavia, che vi sia esatto parallelismo, per cui la riduzione del m-dinitrobenzolo deve essere considerata soltanto come un mezzo di orientamento intorno ai processi respiratori tessulari. A prescindere dalla considerazione che queste esperienze *in vitro* possano solo fino a un certo punto avere attinenza con i fenomeni dell'attività funzionale degli organi, non è da trascurare l'azione propria dei nitrocomposti sulle cellule e sulla loro respirazione interna, soprattutto l'azione tossica della sostanza derivata dal processo di riduzione (ad esempio, la m-nitrofenilidrossilammina). Tanto per stare nel campo dei fenomeni ossido-riduttivi del sistema nervoso centrale, a cui si riferisce questa Nota, ricorderò che Winterstein⁽⁶⁾ ha già dimostrato come la sostituzione dell'ossigeno con accettori d'idrogeno (blu di metilene, m-dinitrobenzolo, chinone) non riesce a conservare né l'eccitabilità riflessa al midollo spinale isolato di rana, né il suo normale scambio gasoso respiratorio; anche dopo asfissia dei centri, gli accettori di idrogeno non possono sostituire l'ossigeno nella sua funzione respiratoria.

Con la stessa tecnica di Lipschitz, recentemente Testa⁽⁷⁾ ha studiato l'andamento dei processi deidrogenativi in poltiglie di tessuto renale prelevato da animali in condizioni

(1) Lavoro eseguito nell'Istituto di Fisiologia della R. Università d' Cagliari.

(2) Nella seduta del 10 marzo 1935.

(3) W. LIPSCHITZ, «Zeitschr. f. physiol. Chem.», CIX, 189, 1920; G. HERTWIG e W. Lipschitz, «Pflüger's Arch. f. d. ges. Physiol.», CLXXXIII, 274, 1920.

(4) W. LIPSCHITZ e A. GOTTSCHALK, «Pflüger's Arch. f. d. ges. Physiol.», CXCI, I, 1921.

(5) M. COMEL, «Arch. di Scienze Biol.», XIII, 158, 1929.

(6) H. WINTERSTEIN, «Pflüger's Arch. f. d. ges. Physiol.», CXCVIII, 504, 1923.

(7) C. TESTA, «Riv. di Patologia sperimentale», N. S., V, 59, 1936.

normali, e, comparativamente, da animali trattati con diuretici; l'A. ha visto che, eccitando la funzione del rene con i diuretici, i processi deidrogenativi aumentano nell'organo, sebbene in vario grado; invece l'azione antidiuretica degli estratti di lobo posteriore ipofisario non modifica la normale attività deidrogenativa del rene. Agendo direttamente sulla innervazione renale (stimolazione faradica del tronco dei vaghi al collo, impiego di farmaci vagotropi; oppure taglio e congelamento dei vaghi al collo, atropinizzazione totale, denervazione dei peduncoli renali) Martini, Bonsignore e Pinotti (1) hanno riscontrato nei cani che l'eccitamento del vago tende a far aumentare il potere riducente dell'urina (ritenuto come espressione della capacità di riduzione del rene stesso), e che tale aumento appare indipendente dall'effetto diuretico; al contrario, la paralisi vagale tende a far diminuire l'attività riducente dell'urina e quindi dell'apparato renale.

Quest'azione del sistema parasimpatico sul potere riducente dei tessuti sembra essere di ordine generale. In realtà, secondo Harris e Beznak (2), nei surreni e nel legato di gatti, cani e cavie non si osservano variazioni della proprietà riducente né dopo stimolazione, né dopo taglio del simpatico, né dopo perfusione di detti organi con liquidi contenenti adrenalina o acetilcolina; per cui gli AA. hanno concluso che tale potere riducente non è influenzato dal sistema nervoso autonomo. Invece Copello (3), se non ha ottenuto modificazioni apprezzabili per i surreni di cavia in seguito alla somministrazione di sostanze parasimpaticotropi, impiegando gli stessi farmaci parasimpaticoinibitori ha notato aumento del potere riducente del fegato, ed al contrario diminuzione per la paralisi del parasimpatico. Già Longo (4) aveva segnalato diminuzione delle proprietà riducenti del fegato per effetto del taglio del vago al collo. Secondo Bonsignore (5), la intensa illuminazione dell'occhio di coniglio (che provoca miosi per eccitamento delle fibre parasimpatiche del nervo oculomotore comune) e l'istillazione, nell'occhio, di soluzioni di farmaci parasimpaticotropi fanno aumentare la capacità riducente dell'umor acqueo, mentre tale effetto manca o si inverte nell'occhio atropinizzato.

Per quanto riguarda il sistema nervoso centrale, le prime ricerche di Ehrlich (6) provarono che, con la stimolazione elettrica ed in presenza di sostanze coloranti capaci di agire da accettori d'idrogeno, si svela, già *intra vitam*, nella sostanza grigia della corteccia cerebrale, un potere di riduzione, dimostrato dallo scoloramento delle stesse sostanze coloranti nello spessore della corteccia, tutt'attorno all'elettrodo. Herter (7), poi, iniettando blu di metilene per via endovenosa, vide che la corteccia cerebrale di coniglio, mentre nell'animale normale resta incolore, appare tinta più o meno nettamente in blu nell'animale raffreddato (fino ad una temperatura rettale di 30-32° C.); la stessa cosa avviene per la corteccia di gatto, narcotizzato con etere etilico, come effetto della diminuzione dei processi ossido-riduttivi, operata dal raffreddamento e dalla narcosi.

(1) E. MARTINI, A. BONSIGNORE e F. PINOTTI, «Boll. Soc. Ital. Biol. sperim.», X, 471, 1935.

(2) Z. HARRIS e A. BEZNAK, «4 Tag. d. Ungar. Gesellsch.», Budapest, 1934 (rif. in «Ber. d. ges. Physiol.», LXXXI, 567, 1935).

(3) F. COPELLO, «Boll. Soc. Ital. Biol. sperim.», X, 509, 1935.

(4) V. LONGO, «Bioch. Terap. sperim.», XX, 333, 1935.

(5) A. BONSIGNORE, «Boll. Soc. Ital. Biol. sperim.», X, 62, 505, 1935.

(6) P. EHRLICH, *Das Sauerstoffbedürfnis des Organismus*. Berlino, 1885.

(7) C. A. HERTER, «Zeitschr. f. physiol. Chem.», XI.II, 493, 1904.

Al di fuori di queste osservazioni accidentali di Ehrlich e di Herter, non ho trovato nella letteratura altri cenni sulle variazioni del potere riducente del tessuto nervoso centrale in rapporto a modificazioni del suo stato funzionale. Ho voluto pertanto indagare se l'esaltamento dell'eccitabilità riflessa centrale, e rispettivamente la sua attenuazione, portassero a paralleli cambiamenti della normale capacità di ridurre, in mezzo acido, l'indicatore di ossido-riduzione 2:6-diclorofenoloindofenolo, capacità che, giustificata da precedenti ricerche⁽¹⁾, risulta possedere in alto grado il tessuto nervoso, nelle sue diverse parti. Ho sperimentato su rospi e ratti albinati (tutti di sesso maschile), cui si induceva abnorme aumento dell'eccitabilità riflessa mediante iniezione sottocutanea di 0,5 cc. (per ciascun rospo) o 1 cc. (per ogni ratto) di sol. di nitrato di stricnina all'1%, oppure di 2 cc. di sol. di acido fenico all'1% (per ciascun rospo); attendevo la comparsa e lo sviluppo del quadro dell'intossicazione acuta stricnica (tetani) o fenolica (cloni), indi prelevavo rapidamente dall'animale tutto il neurasse, previa apertura dello speco vertebrale e della cavità cranica, badando di non ledere nell'operazione la sostanza nervosa. Alcuni ratti sono stati iniettati con 1 cc. di sol. di bromuro di potassio al 25%, al mattino, e sacrificati nelle prime ore del pomeriggio, quand'era chiaramente dimostrabile una diminuzione dell'eccitabilità riflessa degli animali; anche da questi si prelevava tutto il tessuto nervoso centrale. Neurassi di controllo sono stati prelevati da rospi e ratti in condizioni normali, sacrificati mediante rapida compressione alla nuca. Poichè la quantità di sostanza nervosa di ciascun rospo è assai scarsa per poterne indagare il potere riducente, per ogni determinazione ho mescolato insieme sei neurassi di *Bufo vulgaris*. Il peso dei ratti bianchi ha oscillato tra 81 e 150 gr. Anche in queste ricerche, come nelle precedenti sulla presenza e distribuzione di alcune sostanze riducenti nel neurasse, ho impiegato il micrometodo di Birch, Harris e Ray⁽²⁾, basato sulla riduzione, in mezzo acido, del 2:6-diclorofenoloindofenolo; tale procedimento, applicato al tessuto nervoso, può esprimere, anche con dati quantitativi, il potere riducente di cui sono forniti gli estratti acquosi acidi del tessuto. Nella tabella detto potere riducente è quantitativamente indicato dal numero dei cc. della soluzione 1:1000 di indicatore scolorati (ridotti) da 1 gr. di tessuto nervoso fresco. Le esperienze sono state fatte nel mese di febbraio di quest'anno. I risultati ottenuti per i ratti sono stati divisi in due gruppi, in rapporto al peso, e quindi all'età dell'animale, poichè Plaut e Bülow⁽³⁾ hanno recentemente visto che il tessuto nervoso di animali giovani è più ricco di sostanze riducenti di quello degli adulti; pertanto ho separato i valori ricavati da ratti il cui peso corporeo oscillava da 81 a 105 gr., da quelli ottenuti da ratti del peso di 117-150 gr.

(1) M. MITOLO, «Questi Rendiconti», XXII, ser. 6^a, 2^o sem., 359, 1935.

(2) T. W. BIRCH, L. J. HARRIS e S. N. RAY, «Biochem. Journ.», XXVII, 590, 1933.

(3) F. PLAUT e M. BÜLOW, «Z. Neurol.», CLII, 84, 1935.

TABELLA I.
Neurassi di rospi ♂

Controlli	Dopo trattamento con strichina	Dopo trattamento con acido fenico
1 gr. di sostanza nervosa fresca scolora cc. di indicatore		
5,49	5,96	5,92
5,63	6,00	5,86
4,57	5,93	5,89
5,39	5,98	—
—	6,20	—
Media 5,27	6,01	5,89
Differenza —	+ 0,74	+ 0,62

TABELLA II.
Neurassi di ratti albini ♂

Rutto	Peso del ratto gr.	Controlli	Dopo trattamento con strichina
n°.	1 gr. di sostanza nervosa fresca scolora cc. di indicatore		
1	105	4,55	—
2*	81	—	5,90
3	89	—	5,45
4	85	4,57	—
5	90	4,78	—
6	95	—	5,34
7	85	—	5,86
8	87	—	6,26
9	95	5,10	—
Media —	—	4,75	5,76
Differenza —	—	—	+ 1,01

(*) ratto sottoposto.

TABELLA III.
Neurassi di ratti albinis ♂

Ratto	Peso del ratto gr.	Controlli	Dopo trattamento con stricnina	Dopo trattamento con bromuro di potassio
n°.	1 gr. di sostanza nervosa fresca scolora cc. di indicatore			
1	119	4,61	—	—
2	126	—	4,96	—
3 *	143	—	4,91	—
4	137	—	5,29	—
5	122	4,46	—	—
6	117	—	—	4,20
7	135	—	—	4,46
8	150	4,47	—	—
9	150	—	—	4,04
10	130	—	—	4,15
Media	—	4,51	5,05	4,21
Differenza	—	—	+ 0,54	- 0,30

* ratto surrenoprivo.

Le cifre esprimenti il potere riduttore di 1 gr. di sostanza nervosa fresca di rospi e ratti normali, sebbene concordanti fra loro, sono un po' più basse di quelle da me trovate nei precedenti dosaggi (1) eseguiti a Roma nel mese di maggio dell'anno scorso, impiegando la medesima tecnica; senza voler invocare un fattore stagionale che, specialmente per il rospo, potrebbe essere ben chiamato in causa (per analogia con le variazioni di altri fenomeni biochimici di questa specie animale, in rapporto all'epoca annuale dell'esperimento), forse la diversa ricchezza in sostanze riducenti del neurasse dipende dai differenti ceppi di rospi e ratti adoperati nelle presenti ricerche o dalle differenti condizioni ambientali e di alimentazione. Ciò premesso, i risultati che mi sembra si possano ricavare dalle tabelle sono i seguenti:

Per i neurassi di rospo, il normale valore medio di riduzione di 5,27 sale a 5,81 e a 6,01 per l'abnorme aumento della eccitabilità riflessa cau-

(1) Loc. cit.

sato da due tipici veleni convulsivanti centrali, l'acido fenico e la stricnina. Per i neurassi di ratto, la stricnizzazione generale porta le cifre medie di riduzione da 4,75-1,51 rispettivamente a 3,76-5,05; viceversa la depressione dell'eccitabilità riflessa centrale, indotta dal bromuro di potassio, abbassa il valore medio da 1,51 a 4,21.

Farò incidentalmente notare che il ratto n. 2 della prima serie e il ratto n. 3 della seconda serie sono stati privati delle capsule surrenali pochi minuti prima dell'iniezione di stricnina; ho eseguito tale operazione perché alcuni farmacologi⁽¹⁾ sostengono che nel corso dell'avvelenamento da stricnina si ha aumento di incremento adrenalina da parte dei surreni. Ora, l'adrenalina è una delle sostanze svelate dall'indicatore di ossido-riduzione da me adoperato; si sarebbe, quindi, potuto sospettare che le più alte cifre di riduzione, trovate negli estratti del neurasse, non fossero dovute all'aumento dell'eccitabilità riflessa centrale, ma ad un più elevato tenore di adrenalina nel tessuto nervoso. Che ciò non sia è dimostrato dal fatto che valori alti di riduzione si hanno anche per neurassi di animali prima surrenalectomizzati bilateralemente, indi stricninizziati.

Talchè si può trarre la conclusione che uno stato abnorme di ipereccitabilità riflessa del neurasse (di topo e di ratto) si accompagna ad aumento della capacità che il tessuto nervoso centrale possiede di ridurre l'indicatore 2:6- diclorofenoloindofenolo, in mezzo acido; mentre uno stato di depressione dell'eccitabilità riflessa centrale va di pari passo con l'attenuazione dello stesso potere riducente.

Poichè un certo parallelismo esiste tra intensità del ricambio gasoso e del metabolismo materiale da una parte e fenomeni di ossido-riduzione cellulare dall'altra, mi pare che il comportamento del potere riducente dei neurassi per effetto di una maggiore o minore eccitabilità riflessa trovi rispondenza nell'analogo andamento generale dei processi metabolici e della respirazione interna del tessuto nervoso, in precedenza studiato da vari autori (Baglioni, Winterstein, Gayda, Mitolo ecc.) nei diversi stati di attività funzionale del sistema nervoso centrale.

(1) Cir. E. Zenz, *Éléments de Pharmacodynamie spiciale*, to. 1, 297. Parigi, 1932.



