

RENDICONTI DELLA R. ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI

Classe di Scienze fisiche, matematiche e naturali.

Estratto dal vol. XXV, serie 6<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup> sem., fasc. 5-6. - Roma, settembre 1937-xv.

**Fisiologia generale.** — *Contenuto in acido ascorbico del fegato di rana in diverse condizioni sperimentali*<sup>(1)</sup>. Nota<sup>(2)</sup> di G. SCOZ e E. TRIA, presentata dal Corrisp. S. VISCO.

L'acido ascorbico esercita, come è universalmente riconosciuto, un'azione attivatrice o inibitrice *in vitro* su numerose attività enzimatiche (esterasi epatica<sup>(3)</sup>,  $\alpha$  e  $\beta$  amilasi<sup>(4)</sup> ecc.), ed in particolar modo su tutte le attività enzimatiche legate al metabolismo proteico endocellulare (cathepsine<sup>(5)</sup>, arginasi<sup>(6)</sup>). L'azione di questa sostanza, che però, da quanto risulta in letteratura, sembra la più importante è la più sicuramente stabilita, è quella di regolare il sistema  $-SH$  e  $-S-S-$ , al cui equilibrio il sistema enzimatico endocellulare è subordinato (Purr<sup>(7)</sup>).

Se questa ipotesi è esatta, se cioè l'acido ascorbico regola nell'organismo l'attività degli enzimi proteici endocellulari, devono esistere probabilmente delle relazioni tra contenuto in acido ascorbico dei tessuti e intensità ed orientamento del metabolismo proteico endocellulare.

Che così sia in realtà è dimostrato dai seguenti fatti:

1<sup>o</sup> Dalla comparsa e dall'aumento della concentrazione dell'acido ascorbico in tutti quei tessuti animali o vegetali nei quali si iniziano o si esaltano dei processi di sintesi proteica: così, per esempio, nell'uovo con lo sviluppo dell'embrione (Hou<sup>(8)</sup>), nei germogli delle piante (Hausen<sup>(9)</sup>), nel fegato di cavia e di ratti in rapido aumento di peso comunque provocato (Scoz<sup>(10)</sup>, Scoz e Cattaneo<sup>(11)</sup>) nei tumori in attiva proliferazione (Edelbacher<sup>(12)</sup>) ecc.

2<sup>o</sup> Dalla diminuzione della concentrazione dell'acido ascorbico nei tessuti in tutti quei casi nei quali sia esaltato naturalmente o artificialmente il metabolismo cellulare (Scoz<sup>(10, 11)</sup>), tanto nel ratto quanto nella cavia e

(1) Lavoro eseguito nell'Istituto di Fisiologia generale della R. Università di Roma.

(2) Pervenuta all'Accademia il 16 settembre 1937.

(3) W. v. PANTSCHENKO-JUREWICZ u. H. KRAUT, «Biochem. Zs.», 286, 407, 1936.

(4) A. PURR, «Bioch. J.», 28, 1141, 1934.

(5) P. KARRER u. F. ZEHENDER, «Helv. Chem. Acta», 16, 701, 1933.

(6) S. EDELBACHER u. F. KOLTER, «Zs. physiol. Chem.», 227, 99, 1934.

(7) A. PURR, «Biochem. J.», 27, 1703, 1933 e 29, 5, 13, 1935.

(8) C. H. HOU, «Science», 82, 423, 1933.

(9) S. v. HAUSEN, «Biochem. Zs.», 288, 378, 1936.

(10) G. SCOZ, «Archiv. Sc. Biol.», 1936.

(11) G. SCOZ e C. CATTANEO, «Archiv. Sc. Biol.», 1937 (in corso di stampa).

(12) S. EDELBACHER u. A. JUNG, «Hoppe Seyler's Zeit. Physiol. Chem.», 227, 114, 1934.

Max  
P

55

11



in quest'ultima anche se l'animale introduce giornalmente fino a 50 Mg. di acido ascorbico (De Caro <sup>(1)</sup>).

3° Dall'aumento dell'eliminazione dell'acido ascorbico nell'uomo ogni qual volta in conseguenza di processi patologici le condizioni generali di questo presentano un peggioramento (Scoz <sup>(2)</sup>) e dall'aumento del fabbisogno di questa sostanza nell'ipertiroidismo provocato, nella gravidanza ecc. (Widenbauer <sup>(3)</sup>).

Allo scopo di eseguire uno studio sistematico più esteso sulle relazioni tra contenuto in vitamina C dei tessuti e intensità ed orientamento del metabolismo abbiamo iniziate le seguenti ricerche tendenti a dimostrare come vari la concentrazione dell'acido ascorbico del fegato in corrispondenza a variazioni del metabolismo proteico endogeno in animali diversi dai mammiferi e precisamente nelle rane.

#### TECNICA ED ESPERIMENTI.

Le esperienze sono state eseguite su fegati di rana, nei quali si è determinato l'acido ascorbico nella seguente maniera:

Il tessuto fresco viene pesato in pesa filtri, pestato con sabbia di quarzo, ed infine trattato con acido tricloroacetico al 10 %. Si è aggiunta sempre la stessa quantità di acido tricloroacetico, e precisamente 10 cc., a quantità di fegato presso a poco eguali (da 0.8 a 1 gr.), il che si è potuto ottenere sacrificando due, tre rane per ogni esperienza.

Allo scopo di impedire la ossidazione dell'acido ascorbico, si è aggiunto, secondo Fujita <sup>(4)</sup>, per ogni campione 10 cc. di soluzione al 2 % di acido metafosforico. Si è prelevato un'aliquota del filtrato (15 cc.) che si è titolata in piccola capsula di porcellana col reattivo di Tillmans *n*/1000 per mezzo di una microburetta.

Le esperienze possono essere distinte in quattro gruppi:

1° Esperienze con rane tenute ad alimentazione normale, ed in condizioni normali di vita.

Sono state eseguite oltre venti determinazioni, sacrificando circa cinquanta rane, ed i risultati ottenuti sono riassunti nella tabella I, nella quale sono riportate le quantità di vitamina C presenti nel fegato, ed in qualche caso, quando la determinazione è stata eseguita nel fegato di una sola rana, anche il peso corporeo di questa.

I dati raccolti nella tabella dimostrano che non esiste alcuna relazione tra peso corporeo e quantità di acido ascorbico del fegato.

(1) L. DE CARO (ricerche non ancora pubblicate).

(2) G. SCOZ, « *Fisiologia e Medicina* », 7, 1936.

(3) F. WIDENBAUER, « *Klin. Ws.* », 16, 600, 1937.

(4) A. FUJITA D. IWAKAKE U. TADAO MIJATA, « *Bioch. Zeit.* », 277, 296, 1935.

TABELLA I.

*Acido ascorbico del fegato di rane ad alimentazione normale.*

	Acido ascorbico mg. % gr. di fegato	Peso corporeo gr.
1	23	—
2	22.5	—
3	21.9	—
4	21.8	—
5	21	14
6	20.1	—
7	19.6	—
8	19.5	19
9	19.5	—
10	19.4	—
11	19.2	12
12	19	—
13	18.6	—
14	18.5	17
15	18	—
16	18	—
17	17.5	—
18	17.5	—
19	16.4	—
20	16	—
	Media 19.3	

Le oscillazioni tra un animale e l'altro, in vero abbastanza notevoli, possono forse dipendere dal fatto che, come in seguito sarà detto, le determinazioni non sono state probabilmente eseguite lasciando passare lo stesso tempo tra il momento del pasto ed il momento in cui gli animali venivano sacrificati. In ogni modo i valori medi sono eguali a quelli trovati nel ratto e nella cavia da Scoz, e nel coniglio da Jamagami (1).

(1) YAMAGAMI S., K. NOMURA II. N. NISHIGAKI, « Kekaku », 13, 42, 1935.

2° Esperienze con rane tenute a digiuno ed obbligate a muoversi. Le rane di cui ci siamo serviti in queste determinazioni, venivano tenute in una bacinella nella quale era contenuta dell'acqua che si cambiava tutti i giorni. Come si sa, le rane resistono molto bene al digiuno, e pertanto allo scopo di aumentare i fenomeni catabolici, esse venivano fatte muovere due volte al giorno per mezz'ora per mezzo di un recipiente di vetro che si faceva ruotare con un motorino ed un'adatta resistenza.

I dati raccolti nella tabella II dimostrano che già dopo otto giorni di tale trattamento, il contenuto di acido ascorbico nel fegato diminuisce, e la diminuzione va sempre accentuandosi col prolungarsi del periodo di digiuno e di lavoro muscolare.

TABELLA II.

*Acido ascorbico del fegato di rane tenute a digiuno ed obbligate a muoversi.*  
Controlli: valori medio 19.3 - massimo 23 - minimo 16.

Dopo 8 giorni di digiuno		Dopo 15 giorni di digiuno	
1	22	1	15
2	20.6	2	14.6
3	18	3	14.5
4	18	4	14
5	17	5	13.8
6	16.5	6	13.6
7	16	7	13.2
8	16	8	13.1
9	15	9	13.1
10	15	10	12.8
		11	12.6
		12	12.5
		13	11
		14	11
	Media 17.4		
			Media 13.2

3° Esperienze con rane a digiuno, obbligate a muoversi e trattate con tiroxina.

Allo scopo di esaltare ulteriormente i fenomeni catabolici, alle rane tenute a digiuno ed obbligate a muoversi col dispositivo sopra descritto

veniva iniettato per via endoperitoneale 0.5 Mg. di tiroxina Erba per tre volte in tre giorni consecutivi.

Le determinazioni eseguite già dopo tre giorni dalla prima iniezione dimostrano una notevole diminuzione e dei valori medi e dei valori massimi e minimi di acido ascorbico rispetto agli animali controllo.

1° Esperienze con rane rialimentate e trattate con diiodotirosina.

Allo scopo di determinare negli animali un esaltamento dei processi anabolici, alcune rane del lotto precedente dopo quindici giorni del trattamento con tiroxina, vennero nuovamente alimentate e trattate con diiodotirosina (50 Mg. per via endoperitoneale).

Già al terzo giorno dall'inizio di tale trattamento, i valori, pur non raggiungendo ancora il normale sono superiori a quelli trovati nel periodo precedente di digiuno. In seguito tali valori vanno sempre più aumentando fino a divenire nettamente superiori a quelli degli animali di controllo il che si ha dopo circa undici giorni, dopo di che i valori si abbassano e rimangono presso a poco eguali a quelli degli animali controllo.

*Conclusioni.* — È stato determinato il contenuto di acido ascorbico del fegato di rana in diverse condizioni sperimentali.

Il metodo di Tillmans di cui ci siamo serviti non è forse assolutamente specifico ma specialmente dopo le modificazioni ad esso apportate da v. Euler e Martius e da Fujita, esso è allo stato attuale delle nostre conoscenze, il più pratico, il più attendibile ed il più largamente usato.

Le quantità di acido ascorbico trovato con questo metodo nel fegato di cavia oscillano entro limiti piuttosto ampi, tra 16 e 23 Mg. per 100 g. di fegato fresco. Queste oscillazioni sono dello stesso ordine di grandezza di quelle trovate da Scoz e da Scoz e Cattaneo nella cavia e nel ratto e tali variazioni dipendono probabilmente dal non aver noi tenuti gli animali a digiuno per qualche ora prima delle determinazioni. Esse sono anche analoghe a quelle trovate nei mammiferi da altri ricercatori.

Come risulta dalle tabelle I-V, e dalla tabella riassuntiva, la quantità di acido ascorbico varia con la intensità e con l'orientamento del metabolismo proteico endocellulare. Nell'animale a digiuno queste variazioni sono relativamente piccole e diventano evidenti soltanto quando si associa al digiuno il movimento, allo scopo di esaltare il metabolismo endogeno. E ancora più notevole diviene la diminuzione della concentrazione dell'acido ascorbico nel fegato, se l'animale tenuto a digiuno viene trattato con tiroxina allo scopo di esaltare ulteriormente i processi catabolici proteici. In tale caso si ha un abbassamento della concentrazione dell'acido ascorbico dal valore medio di 18 Mg. per cento fino a 10 Mg. per cento, analogamente a quanto si osserva nelle stesse condizioni con l'identico trattamento nella cavia e nel ratto.

TABELLA III.

*Acido ascorbico del fegato di rane tenute a digiuno, trattate con tiroxina ed obbligate a muoversi.*

Controlli: valori medio 19.3 - massimo 23 - minimo 16.

Giorni dall'inizio del trattamento con tiroxina			
8	10	13	15
13	15.6	14	14.1
12	14	11.8	13.2
11.5	13.5	11	12.1
11.2	12.5	10	10.9
11	12	9.8	10.4
10.4	10.9	—	—
10.2	—	—	—
11.3	13.1	11.3	12.1

TABELLA IV.

*Acido ascorbico del fegato di rane rialimentate e trattate con diiodo tiroxina, dopo 15 giorni di digiuno e dopo trattamento con tiroxina*

Controlli: valori medio 19.3 - massimo 23 - minimo 16.

Giorni di rialimentazione					
3	4	6	9	11	13
15.9	19	21	26.2	28.2	25.6
15.6	19	19.8	25.6	28.2	24.2
15.4	17	19.4	24.3	27.5	24.2
14.2	17	19.2	22.1	27.4	21.5
14.2	—	19	21.2	21	21.3
—	—	18.4	—	19	—
—	—	17.2	—	—	—
15.1	18	19.1	23.9	25.2	23.1

TABELLA V RIASSUNTIVA.

	Acido ascorbico mg. % gr. Valori:		
	Medio	Massimo	Minimo
1 Controlli . . . . .	19.3	23	16
2 Rane a digiuno:			
dopo 8 giorni . . . . .	17.4	22	15
» 15 » . . . . .	13.2	15	11
3 Rane a digiuno e trattate con tiroxina:			
dopo 8 giorni . . . . .	11.3	13	10.2
» 10 » . . . . .	13.1	15.6	10.9
» 13 » . . . . .	11.3	14	9.8
» 15 » . . . . .	12.7	17.1	10.4
4 Rane rialimentate e trattate con diiodo tiroxina:			
dopo 3 giorni . . . . .	15.1	15.9	14.2
» 4 » . . . . .	18	19	17
» 6 » . . . . .	19.1	21	17.2
» 9 » . . . . .	23.9	26.2	21.2
» 11 » . . . . .	25.2	28.2	19.0
» 13 » . . . . .	23.4	25.6	21.3

Nell'animale invece nel quale sono esaltati i processi di sintesi proteica col trattamento con diiodotirosina, la concentrazione dell'acido ascorbico nel fegato aumenta gradatamente fino a 28 Mg. %, analogamente a quanto si osserva nella cavia e nel ratto.

Esiste quindi un rapporto tra orientamento del metabolismo e contenuto in vitamina C del fegato. Con ciò non vogliamo dire che le variazioni delle quantità dell'acido ascorbico del fegato siano conseguenza diretta delle variazioni del metabolismo e tanto meno ne siano la causa; vogliamo soltanto affermare che tra contenuto in vitamina C e metabolismo proteico endogeno esistono delle relazioni molto strette, sulla cui natura, allo stato attuale delle nostre conoscenze, è molto difficile pronunziarsi.

Il fatto poi che in animali appartenenti a tipi così diversi come il topo, la cavia, la rana, l'acido ascorbico varia parallelamente alle variazioni del metabolismo proteico potrebbe essere un argomento da aggiungere ai tanti altri esistenti in letteratura a sostegno dell'ipotesi che il sistema enzimatico proteico endocellulare sia lo stesso tanto negli animali omeotermi che nei pecilotermi.

~~319163~~