
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

ANNA FIORENTINI

**Effetto della tiroxina sullo stato di ossido-riduzione
dei tessuti nel ratto**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 45 (1968), n.6, p. 606–611.*

Accademia Nazionale dei Lincei

[<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1968_8_45_6_606_0>](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1968_8_45_6_606_0)

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)*

SIMAI & UMI

<http://www.bdim.eu/>

Fisiologia. — *Effetto della tiroxina sullo stato di ossido-riduzione dei tessuti nel ratto* (*). Nota di ANNA FIORENTINI, presentata (**)
dal Socio R. MARGARIA.

SUMMARY. — In rats treated with D-L T₄, increased oxidation of NAD system, as calculated from the L/P ratio, takes place together with the enhancement of oxygen consumption and body weight loss. This seems to indicate that the primary effect of thyroid hormones is an enhanced activity of oxidative respiratory enzymes: the enzymatic variations at the level of glucose breakdown may be induced secondarily.

L'aumentata intensità metabolica degli animali ipertiroidei si riflette in un aumento del consumo di O₂ della maggior parte dei tessuti [1].

Fra i molti enzimi respiratori la cui attività risulta aumentata [2-3] il più significativo per l'entità e la costanza della variazione è l' α -glicero-fosfato-deidrogenasi legata alle membrane mitocondriali [4], che si ritiene operare la riossidazione del NAD (nicotinamideadeninucleotide) ridotto nel citoplasma cellulare [5]. Nel fegato e nel muscolo di ratti ipertiroidei, aumentano la glucosio 6-P-deidrogenasi e la 6-P-gluconato-deidrogenasi [6], l'acil-fosfatasi [7], l'esochinasi [8]: questi enzimi favoriscono l'utilizzazione del glucosio attraverso lo shunt ossidativo degli esosomonofosfati o per la normale via glicolitica. L'acil-fosfatasi infatti idrolizzando l'acido 1,3-difosfoglicerico a 3-fosfoglicerico, aumenta la disponibilità del fosfato inorganico, che agisce come fattore limitante nel controllo dell'intensità della glicolisi (effetto Pasteur).

La molteplicità delle variazioni enzimatiche indotte dagli ormoni tiroidei non consente di stabilire se il controllo di questi ormoni sul metabolismo energetico si espliciti contemporaneamente a diversi livelli, o se una di queste variazioni sia primitiva e fondamentale. Infatti quando anche una sola reazione, in una sequenza di reazioni metaboliche, aumenta di intensità, è verosimile che gli enzimi che partecipano al processo aumentino secondariamente per un meccanismo di induzione fino a permettere un nuovo equilibrio stazionario caratterizzato da un aumento del flusso metabolico attraverso l'intero sistema.

È stata avanzata recentemente l'ipotesi che variazioni primitive del metabolismo cellulare esitino secondariamente in una variazione della intensità delle ossidazioni [9] e non che queste siano primitive e fondamentali [10].

La presente ricerca si propone di indagare se l'aumento delle attività cataboliche deidrogenanti dei tessuti, in presenza di un eccesso di ormoni tiroidei, sia da ritenersi primitivo o secondario all'aumento dell'attività ossidante respiratoria. Mentre nel primo caso la riduzione del coenzima NAD

(*) Lavoro eseguito con il contributo del C.N.R.

(**) Nella seduta del 14 dicembre 1968.

citoplasmatico, un processo che precede l'attività ossidativa ma è secondario alla deidrogenante, dovrebbe aumentare, nel secondo diminuire. L'attività ossido-riduttiva della frazione libera del NAD citoplasmatico è stata studiata dal rapporto lattato (L)/piruvato (P) [11]. È stato dimostrato in precedenti ricerche che in seguito a somministrazione di tiroxina [14] e triiodotironina [13] nel cane, l'ossidazione del sistema L/P aumentava o diminuiva, a seconda della dose impiegata [12, 13].

Tuttavia non erano state eseguite contemporanee determinazioni del consumo di ossigeno degli animali, e le osservazioni erano limitate al cane che è particolarmente resistente al trattamento con ormoni tiroidei [14].

Nella presente ricerca è stato rilevato il rapporto L/P nel plasma del ratto trattato con T₄, e contemporaneamente si è determinato il consumo di O₂.

Poiché le variazioni del metabolismo dei muscoli scheletrici, cuore, fegato, reni e cute del ratto ipertiroideo decorrono parallele a quelle del metabolismo dell'intero animale [1], il potenziale di ossido-riduzione del plasma riflette verosimilmente quello della maggior parte dei tessuti che con il loro consumo di O₂ concorrono a determinare l'intero metabolismo dell'animale.

MATERIALE E METODI.

Ratti albinì Wistar del peso 275 ± 25 gr venivano trattati per via sottocutanea con dosi giornaliere di 0,30-0,6 mg di D-L T₄ (Roche) per la durata di 10-15 giorni.

Alcuni animali sono stati trattati con 0,3 Uc. di ormone tireotropo (TSH) per 3 gg. Per stabilire un confronto 0,3 mg di adrenalina sono stati somministrati per via sottocutanea ad un gruppo di controlli. Il consumo di ossigeno veniva determinato a temperatura di 26-27°C con un metabolimetro elettrolitico a circuito chiuso [14] che permette osservazioni prolungate. Cateteri di polietilene erano innestati permanentemente nella carotide per il prelievo del sangue: questo veniva lasciato defluire direttamente in acido perclorico ghiacciato e misurato per pesata, quando vi si dovevano dosare il lattato [16] e il piruvato [16]. Il glucosio era dosato col metodo della glucoossidasi.

I rapporti NAD/NADH sono stati calcolati dal rapporto $\frac{(P)}{(L)} \cdot \frac{(H^+)}{(K)}$ assumendo per la costante di equilibrio della latticodeidrogenasi (K) il valore di $5,3 \times 10^{-12}$ e per la concentrazione idrogenionica intracellulare (H⁺) il valore di 10^{-7} [11].

Il potenziale di O—R espresso in mV è stato calcolato dalla relazione:

$$E = E_0 - \frac{RT}{nF} \ln \frac{(L)}{(P)}$$

in cui, E₀ potenziale standard di ossido-riduzione del sistema lattato-piruvato ha un valore di -204 mV a pH 7 [11], R è la costante dei gas (1,987 cal/mole/C°, T la temperatura assoluta, F la costante di Faraday (23.068 cal/V/equiv.) n, numero degli elettroni trasferiti nella reazione = 2.

RISULTATI.

Il metabolismo a digiuno degli animali trattati con T₄ aumenta dopo un periodo di latenza di 2-4 giorni a seconda della dose e raggiunge in 5-7 giorni variazioni massime di + 45 % (fig. 1).

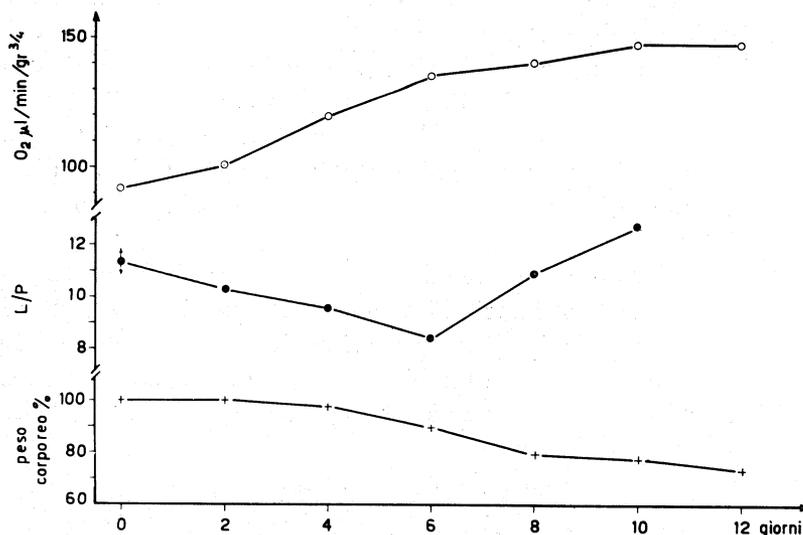


Fig. 1. - Consumo di O₂ (o), peso corporeo (+) e rapporto L/P (●), nel ratto trattato con 0,3 mg/die di D-L-tiroxina.

In questo primo periodo, mentre la concentrazione ematica totale dell'acido L + ac. P non varia sensibilmente, il rapporto L/P diminuisce con il crescere del consumo di O₂ dal valore di 11,3, dei controlli, sino a un minimo di 8,2, mentre il peso corporeo diminuisce parallelamente (fig. 1). L'iperossidazione di NAD appare proporzionale alla intensità del consumo di O₂ (Tabella I).

TABELLA I.

Effetto della T₄, TSH e adrenalina sul consumo di O₂, sull'acido lattico, sul rapporto L/P e sul potenziale di O—R dei tessuti.

	Consumo O ₂ μl/min/gr ^{3/4}	Ac. Lattico mg/100 ml	L/P	E _{mV}	NAD ⁺ /NADH
Controlli	91.3 ± 4.16	9.9 ± 2.4	11.3 ± 0.25	-236.33	1669
T ₄ 0,3 mg × 4 gg . .	125 ± 3.18	7.37 ± 3.6	9.6 ± 0.20	-234.16	1965
T ₄ 0,3 mg × 6 gg . .	141.03 ± 2.30	10.62 ± 4.1	8.45 ± 0.3	-232.46	2230
T ₄ 0,3 mg × 10 gg .	147.14 ± 1.09	25.81 ± 3.67	15.49 ± 0.85	-240.23	1218
TSH 0,4 Uc. × 3 gg.	130	16.3	9.42	-233.90	2003
Adrenalina 0,3 mg .	127.5 ± 15.3	26.7 ± 2.1	17.36 ± 1.77	-242.05	1087

Dopo 6-8 giorni, tanto più precocemente quanto maggiore era la dose di T₄ impiegata il rapporto L/P assume valori sempre più elevati, mentre la concentrazione dell'acido lattico nel sangue sale. Il consumo di O₂ invece non aumenta ulteriormente (fig. 2). Nella Tabella II sono riportate le variazioni del consumo di O₂ e del rapporto L/P nel sangue del ratto normale in rapporto allo stato di alimentazione.

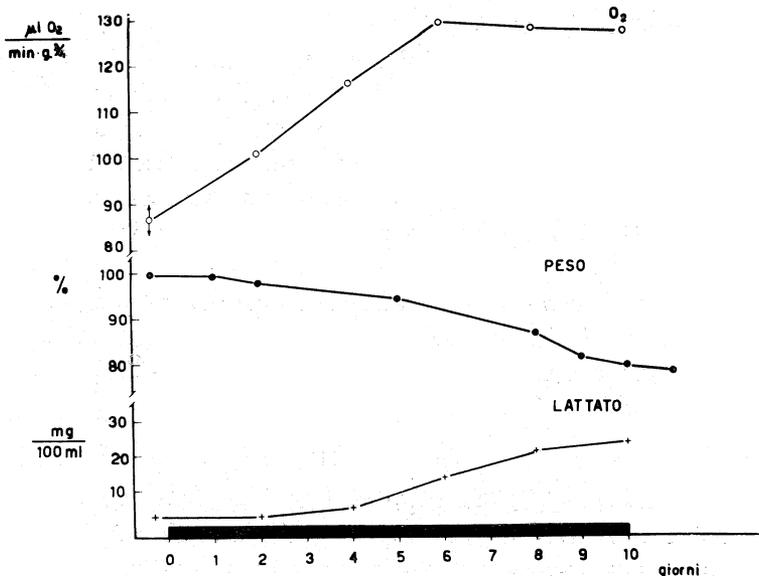


Fig. 2. - Effetto della T₄ (0,6 mg/die) sulla lattacidemia, sul peso corporeo e sul consumo di O₂.

DISCUSSIONE.

L'iperossidazione del sistema L/P che si osserva nel I° periodo della somministrazione di T₄ è modesta e della stessa entità di quella ottenuta in esperimenti sul cane [11].

Che il consumo di ossigeno aumenti ed il peso corporeo diminuisca parallelamente sta ad indicare che per azione della T₄ si stabilisce un nuovo equilibrio stazionario con aumento del flusso di elettroni dai substrati all'O₂ atmosferico.

L'aumento primitivo dell'attività ossidante respiratoria è dimostrato dal fatto che il coenzima NAD, che occupa una posizione intermedia, è ad equilibrio più ossidato.

L'aumentata disponibilità di NAD ossidato favorisce verosimilmente la deidrogenazione della 3-P-gliceraldeide, che è un substrato comune sia alla via glicolitica, sia a quella ossidativa degli esosomonofosfati: la utilizzazione del glucosio aumenta così attraverso due vie parallele.

La variazione delle attività enzimatiche implicate in queste vie metaboliche, sarebbe secondaria, per un meccanismo di induzione.

L'aumentata utilizzazione del glucosio attraverso la via alternativa dello shunt ossidativo offrirebbe anche una spiegazione della contemporanea maggiore riduzione dei coenzimi piridinici di questa via (NADP), che da alcuni autori è ritenuta caratteristica di un eccesso di ormoni tiroidei [9]. La possibilità che venga mantenuto un diverso grado di ossidazione dei due coenzimi NAD e NADP è avvalorata dall'osservazione che la tiroxina inibisce la reazione di equilibrio [17] fra questi due sistemi, attraverso la transdeidrogenasi. L'aumento dello stato di ossidazione del NAD provocato dagli ormoni tiroidei non appare tuttavia specifico, né il suo meccanismo completamente chiaro.

Non si comprende infatti come l'aumento dell' α -glicerofosfato deidrogenasi mitocondriale provocato specificatamente dagli ormoni tiroidei [4] possa portare ad un aumento del grado di ossidazione del substrato dal momento che la concentrazione di questo enzima non sembra essere un fattore limitante la velocità di trasferimento degli elettroni ai mitocondri in condizioni di riposo.

Infatti nell'esercizio muscolare di intensità moderata, quando il consumo di ossigeno aumenta, il rapporto L/P diminuisce [18]. Nel ratto si osserva una lieve diminuzione del rapporto quando il consumo di O_2 aumenta, per effetto dell'alimentazione (Tabella II).

TABELLA II.

Variazioni del consumo di O_2 , del rapporto L/P e del potenziale di ossido-riduzione dei tessuti nel ratto in rapporto allo stato di alimentazione.

	Consumo O_2 ml/min $gr^{3/4}$	Glucosio mg/100 ml	Acido Lattico mg/100 ml	L/P	$\frac{NAD^+}{NADH}$	E_{mV}
Controlli (dig. 16 h)	91.3 ± 4.16	81.6 ± 6.1	9.9 ± 2.4	11.3 ± 0.25	1669	-236.33 ± 0.29
Controlli (dig. 36 h)	79.6 ± 5.4	75.0 ± 5.2	13.2 ± 1.6	12.05 ± 0.31	1565	-236.88 ± 0.34
Controlli (ali- metati)	111.5 ± 11.3	94.7 ± 8.6	14.7 ± 2.6	10.85 ± 0.22	1738	-235.78 ± 0.27

Il grado di ossidazione di NAD appare pertanto connesso alla intensità del consumo di O_2 , mentre il meccanismo di controllo della respirazione resta da chiarire.

È stata infine considerata la possibilità che variazioni contemporanee di altre attività ormonali possano a loro volta modificare il rapporto L/P. In questo senso gli alti valori del rapporto L/P, associati ad aumento del lattato nel sangue, che si riscontrano nei trattamenti prolungati con T_4 , possono essere attribuiti ad una maggiore attività dell'adrenalina [18] che viene inattivata di meno: è noto infatti che la T_4 inibisce l'attività della O-metiltransferasi [19] e della monoaminossidasi [20].

BIBLIOGRAFIA.

- [1] BARKER S. B. e KLITGAARD H. M., «Am. J. Physiol.», 170, 81 (1952).
- [2] BARKER S. B., «Physiol. Rev.», 31, 205 (1951).
- [3] MALEY G. F., «Am. J. Physiol.», 188, 35 (1957).
- [4] LEE Y. P., TAKEMORI A. E. e LARDY H., «J. Biol. Chem.», 234, 3051 (1959).
- [5] ESTABROOK R. W. e SACTOR B., «J. Biol. Chem.», 233, 1014 (1958).
- [6] GLOCK G. E. e MC LEAN P., «Biochem. J.», 61, 390 (1955).
- [7] HARARY I., «Biochim. Biophysic. Acta», 29, 647 (1958).
- [8] SMITH R. H. e WILLIAMS-ASHMAN H. G., «Biochim. Biophys. Acta», 7, 295 (1951).
- [9] SMITH R. E. e HOIJER D. J., «Physiol. Rev.», 42, 60 (1962).
- [10] HOCH F. L., «Physiol. Rev.», 42, 605 (1962).
- [11] BÜCHER T. e KLINGENBERG M., «Angew. Chem.», 70, 552 (1958).
- [12] FIORENTINI A. e CAMONI E., «Boll. Soc. It. Biol. Sper.», 44, 507 (1968).
- [13] FIORENTINI A. e CAMONI E., «Boll. Soc. It. Biol. Sper.», 44, 510 (1968).
- [14] PIATNEK D. A. e OLSON R. E., «Am. J. Physiol.», 201, 723 (1961).
- [15] CAPRARO V., «Nature», 172, 815 (1953).
- [16] HOHORST H. J., KREUTZ F. H. e BUCHER T., «Biochem. Z.», 18, 332 (1959).
- [17] DEVLIN T. M., «J. Biol. Chem.», 234, 962 (1959).
- [18] FIORENTINI A. e CAMONI E., «Boll. Soc. It. Biol. Sper.» (in corso di stampa).
- [19] D'IORIO A. e LEDUC J., «Arch. Biochem. Biophys.», 87, 224 (1960).
- [20] ZILE M. e LARDY H., «Arch. Biochem. Biophys.», 82, 411 (1959).