
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

GIOVANNI DELRIO, VIRGILIO BOTTE, CONCETTA LUPO
DI PRISCO

Ricerca degli enzimi della steroidogenesi nel vitello dell'uovo di *Gallus domesticus*

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 45 (1968), n.6, p. 616-619.*
Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1968_8_45_6_616_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/>

Endocrinologia. — *Ricerca degli enzimi della steroidogenesi nel vitello dell'uovo di Gallus domesticus* (*). Nota di GIOVANNI DELRIO, VIRGILIO BOTTE e CONCETTA LUPO DI PRISCO, presentata (**) dal Socio G. MONTALENTI.

SUMMARY. — The enzymes of steroidogenesis have been tested in the yolk of the hen's egg. From the incubations with the appropriate labelled steroids, the following enzymes were found: 20 α -22-C₂₇-desmolase, Δ^5 -3 β -hydroxy steroid dehydrogenase; 17 α -hydroxy steroid dehydrogenase; 17 β -hydroxy steroid dehydrogenase; 17 α -20-C₂₁-desmolase.

These remarks apply for a potential steroidogenesis in the yolk.

Il vitello delle uova è stato considerato per molto tempo come semplice materiale di riserva, utilizzato dall'embrione durante il suo sviluppo.

Nel vitello di uova di Anfibi, tuttavia, è stata messa in evidenza una fosfatasi fosfoproteica che scinde il fosforo inorganico dalle fosfoproteine (Brachet, 1944; Harris, 1946; Barth e Jaeger, 1950). Nel vitello delle uova di *Xenopus*, Deuchar (1958) ha trovato un alto contenuto di catepsina.

Queste osservazioni escludono che il vitello possa essere considerato come semplice materiale di riserva per l'embrione.

Altri autori, mediante saggi biologici, hanno messo in evidenza una discreta attività estrogenica da parte del vitello di uova di gallina (Fellner, 1925; Kopeć e Greenwood, 1929; Serono e Montezemolo, 1936; Ribulleau, 1938 a e 1938 b; Altmann e Hutt, 1938; Marlow e Richert, 1940). Riddle e Dunham (1942) ritengono che nel colombo viaggiatore vi sia passaggio di materiale estrogenico dal sangue direttamente nelle uova. Hertlendy e Common (1965) hanno tentato l'isolamento e la identificazione di estrogeni nel vitello di uova di gallina mediante cromatografia su strato sottile, ma non sono riusciti a mettere in evidenza alcun ormone, probabilmente perché questi ultimi sono presenti in quantità inferiori alla sensibilità dei metodi da essi usati. Hisaw (1959), invece, ha trovato una quantità particolarmente alta di estrogeni nel vitello delle uova di elasmobranchi, e questo contenuto aumenta con la maturazione delle uova (Simpson, Wright e Hunt, 1963).

Basandoci su quanto premesso ci è sembrato di un certo interesse stabilire se nel vitello siano presenti gli enzimi della steroidogenesi, che potrebbero permettere la biosintesi di ormoni steroidi direttamente nella cellula uovo.

(*) Lavoro eseguito presso la II Cattedra di Anatomia Comparata della Facoltà di Scienze (con un contributo del Consiglio Nazionale delle Ricerche) e la Cattedra di Istologia ed Embriologia Generale della Facoltà di Medicina Veterinaria dell'Università di Napoli.

(**) Nella seduta del 14 dicembre 1968.

MATERIALI E METODI.

Le uova sono state prelevate dall'ovidutto di gallina ovulante; dopo l'eliminazione dell'albume, il tuorlo è stato omogenizzato in Krebs-Ringer fosfato a pH 7,4.

Il mezzo di incubazione era costituito da 1 mg di NAD, 4,5 ml di Krebs-Ringer fosfato a pH 7,4, una determinata quantità di substrato sciolta in 0,5 ml di glicol propilenico, ed un'aliquota di omogenato corrispondente a 500 mg di vitello. Come substrati venivano usati i seguenti steroidi: 0,45 μ c di colesterolo-4-C¹⁴ (0,145 μ c/ μ g); 0,55 μ c di pregnenolone-4-C¹⁴ (0,076 μ c/ μ g); 0,55 μ c di progesterone-4-C¹⁴ (0,146 μ c/ μ g); 0,43 μ c di 17 α -idrossiprogestosterone-4-C¹⁴ (0,109 μ c/ μ g); 0,50 μ c di androstenedione-4-C¹⁴ (0,50 μ c/ μ g); 0,52 μ c di testosterone-4-C¹⁴ (0,156 μ c/ μ g) (1). Gli steroidi, cromatograficamente puri, sono stati acquistati dalla NEC. Le incubazioni sono state eseguite a 37° C in aria per 4 ore con colesterolo e pregnenolone e per 3 ore con gli altri substrati.

L'incubazione è stata bloccata per aggiunta di 0,3 ml di alcool etilico e 4 ml di cloruro di metilene. Il prodotto di trasformazione è stato estratto 3 volte con 12 volumi di cloruro di metilene ed una volta con 12 volumi di acetato di etile. I quattro estratti sono stati riuniti ed evaporati; successivamente sono stati cromatografati su gel di silice GF₂₅₄ (0,25 mm), usando lastre 20 × 20 cm. Sono stati usati i seguenti sistemi: 1) 5 % acetone-cloroformio; 2) 30 % alcool isopropilico-cicloesano; 3) 20 % acetone-cloroformio. Dopo ogni cromatografia, le zone corrispondenti agli steroidi usati come standards sono state eluite e su un'aliquota dell'eluato è stata misurata la radioattività. Sul rimanente è stata operata la cristallizzazione fino ad attività specifica costante dopo aggiunta di 20 mg dello steroide cromatograficamente corrispondente alla zona in esame. Per la misura della radioattività è stato usato un Packard Tri-Carb Scintillation Spectrometer; la soluzione per lo scintillatore era costituita da 5 % di PPO e da 0,5 % di POPOP in toluolo. L'efficienza dell'apparecchio era del 68 %.

RISULTATI E CONCLUSIONI.

Nella Tabella I sono indicati i vari enzimi della steroidogenesi la cui presenza è stata rivelata dai prodotti di trasformazione dei vari steroidi usati come substrati.

20 α -22-C₂₇ Desmolasi.

La presenza degli enzimi che intervengono nella demolizione della catena laterale del colesterolo è dimostrata dalla trasformazione di questo substrato in pregnenolone.

(1) Abbreviazioni usate: Pregnenolone = 3 β -idrossipregn-5-ene-20-one; 17 α -idrossipregnenolone = 3 β ,17 α -diidrossipregn-5-ene-20-one; Deidroepiandrosterone = 3 β -idrossiandrost-5-ene-17-one; Progesterone = Pregn-4-ene-3,20-dione; 17 α -idrossiprogestosterone = 17 α -idrossipregn-4-ene-3,20-dione; Androstenedione = Androst-4-ene-3,20-dione; Testosterone = 17 β -idrossiandrost-4-ene-3-one.

TABELLA I.

Enzimi della steroidogenesi nel vitello dell'ovov di Gallus domesticus.

La presenza di attività enzimatica è indicata dalla formazione del prodotto di trasformazione del precursore, espresso in c.p.m./mg di carrier aggiunto nella cristallizzazione (attività specifica).

Steroidi precursori marcati con C ¹⁴ nella posizione 4	20 α -22-C ₂₇ desmolasi	Δ^5 -3 β -idrossisteroide deidrogenasi	Enzimi 17 α -idrossisteroide deidrogenasi	17 α -20-C ₂₁ desmolasi	17 β -idrossisteroide deidrogenasi
Colesterolo	pregnenolone (1060)		17 α -OHpregnenolone (39,362) (*) 17 α -OHpregnenolone (49816) (*) 17 α -OHprogesterone (149)	deidroepiandrosterone (400) androstenedione (70)	testosterone (207)
Pregnenolone		progesterone (72)		deidroepiandrosterone (280) androstenedione (1292)	testosterone (254)
Progesterone				androstenedione (626)	testosterone (2539)
17 α -idrossiprogesterone				androstenedione (205)	testosterone (185)
Androstenedione					
Testosterone					

(*) Steroide non cristallizzato; c. p. m. della zona della cromatografia su strato sottile, corrispondente al 17 α -idrossipregnenolone.

$\Delta^5-3\beta$ -idrossisteroide deidrogenasi.

La $\Delta^5-3\beta$ -idrossisteroide deidrogenasi viene messa in evidenza dalla trasformazione del pregnenolone in progesterone.

17 α e 17 β -idrossisteroide deidrogenasi.

Un'attività 17 α -idrossisteroide deidrogenasi risulta dalla trasformazione del pregnenolone in 17 α -idrossipregnenolone (non cristallizzato) e del progesterone in 17 α -idrossiprogestosterone.

La presenza di una 17 β -idrossisteroide deidrogenasi, che agisce reversibilmente, è stata messa in evidenza dalla interconversione dei substrati androstenedione e testosterone.

17 α -20-C₂₁ desmolasi.

Un'attività desmolastica viene confermata dalla trasformazione del 17 α -idrossiprogestosterone in androstenedione e del 17 α -idrossipregnenolone in deidroepiandrosterone.

La presenza nel vitello di alcuni dei più importanti enzimi che intervengono nella steroidogenesi potrebbe avvalorare l'ipotesi che la cellula uovo abbia la capacità di operare la trasformazione del colesterolo endogeno in ormoni steroidi indipendentemente dalle cellule della parete follicolare.

Queste osservazioni non ci permettono di affermare che vi sia un'attiva steroidogenesi nell'uovo di gallina, tenuto conto anche del fatto che solo minime quantità di ormoni steroidi sono state identificate nel vitello (cfr. Hertlendy e Common, 1965), che potrebbero essere, oltretutto, di origine esogena (Riddle e Dunham, 1942). Tuttavia non si può escludere che la cellula uovo possa partecipare, durante il suo sviluppo nell'ovario, alla produzione di ormoni, successivamente ceduti alle pareti follicolari e quindi al circolo sanguigno.

BIBLIOGRAFIA.

- ALTMANN M. e HUTT F. B., «Endocrinology», 23, 793 (1938).
 BARTH L. G. e JAEGER L., «J. Cell. Comp. Physiol.», 35, 413 (1950).
 BRACHET J., «Enzymologia», 10, 87 (1944).
 DEUCHAR E. M., «J. Embryol. exp. Morphol.», 6, 223 (1958).
 FELLNER O. O., «Klinische Wochenschrift», 4, 1651 (1925).
 HARRIS D. L., «J. Biol. Chem.», 165, 541 (1946).
 HERTLENDY F. e CONNR R. H., «Poultry Science», 44 (5), 1205 (1965).
 HISAW F. L., in GORBMAN A., *Comparative endocrinology*, Wiley, N. Y. (1959).
 KOPEĆ S. e GREENWOOD A. W., «Archiv. f. Entwicklungsmechanik», 121, 87 (1929).
 MARŁOW H. W. e RICHERT D., «Endocrinology», 26, 531 (1940).
 RIBOULLEAU J., «Compt. Rend. Soc. de Biol.», 129, 914 (1938 a).
 RIBOULLEAU J., «Compt. Rend. Soc. de Biol.», 129, 1045 (1938 b).
 RIDDLE O. e DUNHAM H. H., «Endocrinology», 30, 959 (1942).
 SERONO C. e MONTEZEMOLO R., «Rass. Clin. Terap. Sci. Affini», 35, 109 (1936).
 SIMPSON T. H., WRIGHT R. S. e HUNT S. V., «J. Endocrinol.», 26, 499 (1963).