Atti Accademia Nazionale dei Lincei

Classe Scienze Fisiche Matematiche Naturali

Rendiconti

Anna Fiorentini

Effetto dell'idrocortisone sullo stato di ossido-riduzione del coenzima NAD nel ratto

Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. **46** (1969), n.1, p. 91–95.

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1969_8_46_1_91_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/

Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti, Accademia Nazionale dei Lincei, 1969.

Fisiologia. — *Effetto dell'idrocortisone sullo stato di ossido-riduzione del coenzima* NAD *nel ratto* (*). Nota di ANNA FIORENTINI, presentata (**) dal Socio R. MARGARIA.

SUMMARY. — Intraperitoneal administration of hydrocortisone to rats is followed by a decrease of the oxidation potential of plasma as calculated from the lactate/pyruvate ratio. The blood lactate is low despite the increase in lactate-pyruvate ratios. The data indicate that the increased reduction of NAD coenzymes may exert a primary effect in inhibiting carbohydrate breakdown and in increasing blood glucose and liver glycogen.

I glucorticoidi del surrene favoriscono la glicogeno sintesi [1] e la gluconeogenesi [2] dai protidi [3]: la somministrazione di idrocortisone conduce ad un aumento di molti enzimi epatici che prendono parte ai processi di neoformazione dei glucidi e di sintesi di glicogeno come la transaminasi glutammico-piruvica [4] la glucosio-6-fosfatasi [5], la fruttosio 1-6 difosfatasi [6] e la glicogenosintetasi [7].

È stata in passato avanzata l'ipotesi che gli ormoni steroidi stimolino le sintesi enzimatiche [8]. Tuttavia la prontezza con cui il cortisolo eleva la glicemia ed aumenta la sintesi epatica del glicogeno nell'animale integro e surrenectomizzato [9] e la permanenza di queste risposte metaboliche anche in presenza di inibitori delle sintesi proteiche [5, 9], fa supporre che la sintesi enzimatica, che è un processo necessariamente lento, non sia essenziale per il manifestarsi di questi effetti [10]. Appare pertanto importante indagare quali sono le variazioni metaboliche fondamentali che precedono le variazioni periferiche più pronte quali l'aumento della glicemia e del glicogeno epatico e muscolare.

In una precedente ricerca avevamo messo in evidenza che nel ratto surrenectomizzato il coenzima nicotinamideadenindinucleotide (NAD) del plasma è in forma proporzionalmente più ossidata e che la somministrazione di idrocortisone riporta il livello di ossidazione a valori normali [11].

Poiché lo stato di O—R del coenzima NAD plasmatico, in condizioni stazionarie (riposo o lavoro costante) è in equilibrio con quello dei citoplasmi cellulari [12] in cui hanno luogo molte reazioni intermedie del metabolismo glucidico e proteico, abbiamo ritenuto utile seguire lo stato di O—R del coenzima nel plasma del ratto trattato con dosi diverse di idrocortisone.

MATERIALE E METODI.

Gli esperimenti sono stati eseguiti su ratti maschi albini, Wistar e Sprague-Dawley, del peso di 280 ± 30 gr.

Idrocortisone emisuccinato (Richter) veniva somministrato per via intraperitoneale agli animali integri digiuni da 12 h. Le dosi erano comprese

(*) Lavoro eseguito con il contributo del C.N.R.
(**) Nella seduta del 14 dicembre 1968.

tra 15 e 75 mg/kg. A partire da 30′ e per la durata di 4–6 h venivano eseguiti prelievi di sangue per il dosaggio del glucosio [12], del lattato [13] e del piruvato [13]. Il rapporto lattato/piruvato (L/P) del sangue è stato assunto come misura dell'attività riduttiva del coenzima NAD libero.

Una relazione quantitativa tra i due rapporti è stata stabilita secondo la (1)

$$\frac{NADH}{NAD} = \frac{(L)}{(P)} \times \frac{(K)}{(H^+)} \qquad (1)$$

in cui K costante di equilibrio della reazione di riduzione del piruvato a lattato è stata assunta eguale a $5{,}3 \times 10^{-12}$, e H^+ concentrazione intracellulare di idrogenioni $= 10^{-7}$ [12]. I rapporti così calcolati hanno un valore solamente indicativo in quanto gli isoenzimi della lattico–deidrogenasi plasmatica hanno costanti di equilibrio differenti.

Il potenziale di ossido–riduzione del sistema lattato–piruvato è stato calcolato dalla relazione:

$$E = E_0 - \frac{RT}{nF} \log \frac{(L)}{(P)} \qquad (2)$$

in cui il potenziale standard del sistema a pH7, $E_0 = 204$ mV.

Risultati.

In fig. 1 sono riportati i risultati ottenuti dopo somministrazione di 60 mg/kg di idrocortisone. Il rapporto L/P inizia a salire nei primi 30′ per raggiungere nella prima ora un valore che tende a mantenersi costante nelle 4 h successive.

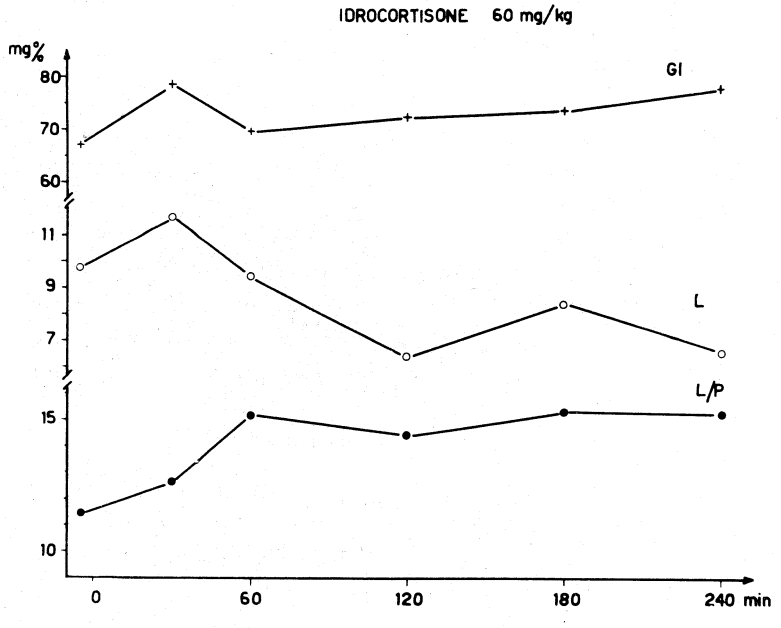

Fig. 1. – Effetto dell'idrocortisone sul glucosio, sull'ac. lattico e sul rapporto L/P nel sangue del ratto.

Il glucosio ematico ed il lattato, a parte un transitorio aumento, nei primi 30', che essendo presente anche nei controlli iniettati con soluzione fisiologica, può essere attribuito alle manovre dell'iniezione, tendono il primo ad aumentare lentamente, il secondo a diminuire.

TABELLA I.

Acido lattico, rapporti L/P *e* NAD/NADH *nel plasma del ratto 1 ora dopo l'iniezione di idrocortisone.*

	Ac. Lattico mg/100 gr	L/P	NAD/NADH
Controlli	9.9	11.3	1669
Idroc. 15 mg/kg	11.66	12.11	1558
Idroc. 30 mg/kg	15.00	13.33	1410
Idroc. 45 mg/kg	6.7	13.92	1355
Idroc. 60 mg/kg	8.73	15.61	1200
Idroc. 75 mg/kg	6.30	17.72	1060

L'aumento del rapporto L/P e la diminuzione del rapporto NAD/NADH ad un'ora dall'iniezione di cortisolo sono tanto maggiori quanto maggiore è la dose di cortisolo come risulta dai dati della Tabella I.

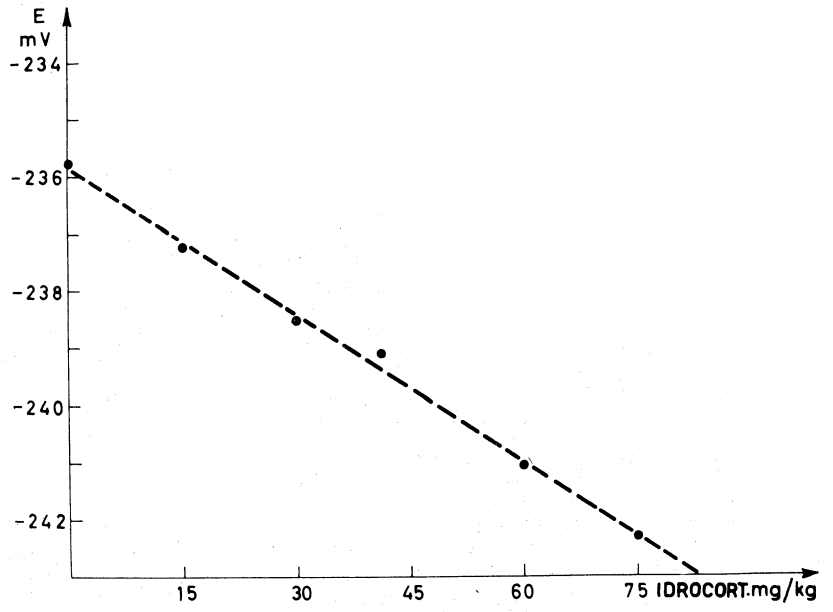

Fig. 2. – Potenziale di ossido–riduzione dei tessuti in funzione della dose di cortisolo iniettata.
I prelievi sono stati effettuati 1 h dopo l'iniezione intraperitoneale di idrocortisone.

La fig. 2 rappresenta l'andamento della curva del potenziale di O—R in funzione della dose di idrocortisone iniettata. La retta di regressione è stata calcolata col metodo dei minimi quadrati.

Discussione.

L'aumento del rapporto L/P, espressione di una aumentata riduzione del coenzima NAD, compare precocemente dopo l'iniezione del cortisolo, tende a mantenersi relativamente stabile e, non è accompagnata da un contemporaneo aumento della concentrazione dei due metaboliti (L + P) che permangono a valori inferiori ai controlli.

La risposta glicemica appare invece in lieve progressivo aumento, come lo è il glicogeno epatico [9].

L'incremento della glicemia è modesto se confrontato con quello rilevato da altri autori [9], probabilmente per lo stato di digiuno prolungato (12–18 ore) in cui si trovavano gli animali al momento dell'esperimento; quando il cortisolo era iniettato in animali non digiuni l'aumento era infatti più rilevante. La maggiore riduzione del coenzima NAD per effetto del cortisolo può essere dovuta ad una diminuita intensità degli scambi respiratori o a variazioni quantitative o qualitative delle reazioni metaboliche di deidrogenazione.

Una depressione del metabolismo ossidativo per effetto di vari steroidi [14] per quanto osservata *in vitro* non sembra verificarsi in maniera apprezzabile in queste condizioni sperimentali.

Si pone ora il problema se l'aumentata riduzione del coenzima NAD sia la conseguenza di una maggiore formazione di metaboliti acidi provenienti dalla demolizione del glucosio, o se invece sia di per sé una condizione capace di orientare alcuni metaboliti citoplasmatici verso la formazione di carboidrati. La reazione di deidrogenazione della 3–P gliceraldeide conduce infatti ad una riduzione del NAD, ma può anche a sua volta essere inibita da una eccessiva riduzione del coenzima stesso.

È da sottolineare che i risultati ottenuti dopo somministrazione di cortisolo presentano analogie con quelli rilevati nei ratti ipotiroidei [15]; anche in quel caso una più elevata riduzione del coenzima NAD era associata ad una bassa concentrazione ematica dell'acido lattico, dimostrando che l'aumento dell'acido lattico non è necessariamente associato alla diminuita ossidazione del coenzima NAD [16].

Nei presenti esperimenti, nonostante l'aumentata disponibilità di glucosio ematico, la concentrazione di metaboliti come L e P è inferiore ai controlli. Si può perciò presumere da tutti questi dati che l'aumento della riduzione del NAD costituisca una condizione determinante nel diminuire l'utilizzazione dei carboidrati e nell'orientare il glucosio verso la sintesi epatica di glicogeno. Non è possibile individuare da questi risultati, quali reazioni metaboliche elevino il grado di riduzione del coenzima NAD o se tale effetto debba essere attribuito ad una primitiva mobilizzazione dei protidi.

BIBLIOGRAFIA.

[1] LONG C. N. H., KATZIN B. e FRY E. G., « Endocrinology », *26*, 309 (1940).
[2] CLARK I., « J. Biol. Chem. », *200*, 69 (1953).
[3] LONG C. N. H., SMITH O. K. e FRY E. G., *Metabolic Effects of Adrenal Hormones*, 4 (Churchill, Lond) 1960.
[4] ROSEN F., ROBERTS N. R. e NICHOL C. A., « J. Biol. Chem. », *234*, 476 (1959).
[5] KVAM D. C. e PARKS R. E. JR., « Am. J. Physiol. », *198*, 21 (1960).
[6] MOKRASCH L. C., DAVIDSON W. D. e MC GILVERY R. W., « J. Biol. Chem », *222*, 179 (1956).
[7] HILZ H., TARNOWSKI W. e AREND P., « Biochem. Biophys. Research Communs », *10*, 492 (1963).
[8] GREENGARD D., WEBER G. e SINGHAL M., « Science », *141*, 160 (1963).
[9] RAY P. D., FOSTER D. O. e LARDY H. A., « J. Biol. Chem. », *239*, 3396 (1964).
[10] SEGAL H. L. e LOPEZ C. G., « Nature », *200* 143 (1963).
[11] FIORENTINI A. e CAMONI E., « Boll. Soc. It. Biol. Sper. ». in corso di stampa.
[12] HUGGET A. ST e G. NIXON D. A., « Biochem. J. », *66*, 12 P. (1957).
[13] HOHORST H. J., KREUTZ F. H. e BÜCHER T., « Biochem. Z. », *332*, 18 (1959).
[14] WADE R. e JONES H. W. JR., « J. Biol. Chem. », *220*, 553 (1956).
[15] FIORENTINI A., « Rend. Acc. Naz. Lincei », (in corso di stampa).
[16] HUCKABEE W. E., « Am. J. Physiol. », *196*, 253 (1959).