
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

ULDERICO VENTURA, TERESA CERIANI, GIANGUIDO
RINDI

La vitamina A nell'elettrogenesi cardiaca e nella funzionalità del nervo periferico

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 55 (1973), n.1-2, p.
119–126.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1973_8_55_1-2_119_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. — *La vitamina A nell'elettrogenesi cardiaca e nella funzionalità del nervo periferico* (*). Nota (**) di ULDERICO VENTURA, TERESA CERIANI e GIANGUIDO RINDI, presentata dal Socio G. C. PUPILLI.

SUMMARY. — Recently it has been claimed that vitamin A *per se* may play a role in the structure and stability of biological membranes. We tested that hypothesis on two excitable tissues (heart and peripheral nerve) directly related to membrane phenomena.

Ventricular cell action potentials were measured *in situ* in the hearts both of vitamin A-deficient rats and of hypervitaminotic A rats. In sciatic nerves of mild and severe vitamin A-deficient rats the compound action potential and the absolute and relative refractory periods were measured.

Modifications of ventricular cell action potentials and of compound action potentials seem to depend specifically on the lack of vitamin A. In fact vitamin A supplementation to deficient rats restored cardiac electrogenesis and nerve function nearly to normal.

The results of our study conform to the conclusion that vitamin A affects the structural properties of the biological membranes.

I risultati di numerose ricerche [1-5] hanno portato all'ipotesi che la presenza della vitamina A sia essenziale per garantire la stabilità e l'integrità funzionale delle membrane biologiche. In realtà l'axeroftolo è, pur in concentrazioni molto basse, un normale componente di queste strutture [4-6]. La sua carenza causa non solo evidenti alterazioni morfologiche nelle membrane degli eritrociti [7], del reticolo endoplasmatico [8] e dei lisosomi di fegato di ratto [9], ma anche alterazioni nella distribuzione cellulare degl'ioni sodio e potassio in alcune frazioni subcellulari di fegato di ratto [10] e modificazioni della permeabilità delle membrane cellulari agli aminoacidi [11]. Anche la somministrazione di dosi eccessive di vitamina A determina, sia *in vivo* che *in vitro*, ampie modificazioni strutturali delle membrane [12-15]. Funzione dell'axeroftolo sembrerebbe, inoltre, quella di attivare il metabolismo dei solfati [16-18] e di favorire in questo modo la sintesi delle glicoproteine [19] e dei glico- e sulfo-lipidi [20] della membrana cellulare.

Data l'importanza che quest'ultima ha nella genesi dell'attività elettrica dei tessuti eccitabili, ci è sembrato interessante studiare se la carenza di axeroftolo o il suo eccesso fossero in grado di determinare alterazioni funzionali elettrofisiologicamente rilevabili, nell'ipotesi che la vitamina A sia in effetti indispensabile all'integrità delle membrane cellulari.

Nella presente Nota vengono comunicati i risultati di un nostro studio eseguito su due tessuti eccitabili: il *miocardio* ed il *nervo*. In questi tessuti

(*) Lavoro eseguito, col sussidio del C.N.R., nell'Istituto di Fisiologia umana dell'Università di Pavia.

(**) Pervenuta all'Accademia il 15 luglio 1973.

abbiamo valutato alcuni parametri funzionali in condizioni di carenza di vitamina A (avitaminosi A) e, per il solo miocardio, anche in condizioni di eccesso vitaminico (ipervitaminosi A). In particolare abbiamo studiato la morfologia e le caratteristiche del potenziale d'azione intracellulare di singole cellule ventricolari di ratto, nonché l'aspetto e le caratteristiche del potenziale d'azione composito del nervo sciatico. In quest'ultimo abbiamo anche determinato il contenuto in sulfolipidi con l'intento di poter correlare i parametri funzionali con eventuali modificazioni biochimiche, dato il significato che la vitamina A sembra avere nel metabolismo dello zolfo [20].

Per lo studio sul miocardio sono stati usati: *a)* ratti *in avitaminosi A*, ottenuta per alimentazione con una dieta priva di vitamina A [21]; *b)* ratti *in ipervitaminosi A*, ottenuta con somministrazione *per os* di dosi elevate di vitamina A palmitato [22, 23]; *c)* ratti *di recupero*, e cioè ratti resi carenti in vitamina A a cui veniva, successivamente, somministrata, *per os*, vitamina A palmitato, in quantità corrispondente al fabbisogno giornaliero, per un periodo di 20 giorni, tempo sufficiente per una ripresa della crescita normale degli animali [24].

Gli stati di avitaminosi, di ipervitaminosi A e di recupero erano valutati in base alla determinazione chimica [25] del contenuto epatico e miocardico di vitamina A. Mentre l'avitaminosi A era caratterizzata da livelli molto bassi di vitamina A nei suddetti tessuti, nell'ipervitaminosi si riscontrava un accumulo notevole di vitamina sia nel fegato ($8,49 \pm 1,16$ mg/gr) che nel cuore ($55,20 \pm 17$ μ g/gr). Il recupero dell'avitaminosi era definito dal ritorno alla norma del contenuto epatico in vitamina A (20-200 μ g/gr).

Dal cuore « in situ » di ratti in anestesia da uretano etilico, in cui, in seguito ad apertura del torace, la respirazione era mantenuta a mezzo di una pompa schermata, venivano derivati i potenziali d'azione, dopo l'impalamento di singole cellule del miocardio ventricolare con microelettrodi fluttuanti [26]. La derivazione dei potenziali d'azione era eseguita sia a frequenza cardiaca spontanea che a frequenze superiori pilotate dall'esterno (460; 500; 600 battiti/min) [27]. I potenziali intracellulari erano registrati sullo schermo di un oscilloscopio a raggi catodici e fotografati. Sull'immagine ingrandita dei potenziali d'azione venivano misurati [28, 29] i seguenti parametri: ampiezza, durata, velocità di depolarizzazione, velocità di ripolarizzazione rapida e lenta.

Nei ratti carenti di vitamina A (Tabella I e figg. 1, 2) il potenziale d'azione delle cellule del miocardio ventricolare presentava un aumento dell'ampiezza (3%) ed un aumento della velocità di depolarizzazione (13%) sia a frequenza cardiaca spontanea (338 battiti/min) che a frequenze aumentate. La velocità di ripolarizzazione rapida e la durata del potenziale d'azione erano, inoltre, diminuite. Il recupero degli animali dallo stato di avitaminosi per trattamento con vitamina A determinava la quasi completa regressione dell'alterazioni citate nei parametri del potenziale d'azione intracellulare. Solo la velocità di depolarizzazione restava un po' inferiore ai controlli.

Nei ratti in ipervitaminosi A (Tabella I e figg. 1, 2) il potenziale d'azione intracellulare cardiaco mostrava una diminuzione dell'ampiezza (7%), della

TABELLA I

Ampiezza, velocità di depolarizzazione e di ripolarizzazione rapida e lenta, durata di potenziali d'azione intracellulari ventricolari misurati a frequenza cardiaca spontanea nel cuore in situ di ratto (Medie \pm e.s.).

| TRATTAMENTO | AMPIEZZA (mV) | VELOCITÀ (V/sec) | | | DURATA (msec) |
|-----------------------------------|---------------------|---------------------|--------------------|--------------------|---------------------|
| | | Depolarizzazione | Ripolarizzazione | | |
| | | | Rapida | Lenta | |
| Controlli (**) | 97,03 \pm 0,63 | 85,97 \pm 1,24 | 2,09 \pm 0,04 | 0,44 \pm 0,009 | 89,54 \pm 1,91 |
| Avitaminosi A | 99,75 \pm 0,78(*) | 96,62 \pm 0,49(*) | 1,83 \pm 0,06(*) | 0,45 \pm 0,004 | 96,74 \pm 0,93(*) |
| Controlli (**) | 100,12 \pm 0,74 | 84,33 \pm 1,28 | 2,54 \pm 0,04 | 0,44 \pm 0,004 | 87,12 \pm 0,07 |
| Avitaminosi A + vit. A (recupero) | 98,34 \pm 0,70 | 79,33 \pm 1,43(*) | 2,62 \pm 0,05 | 0,43 \pm 0,005 | 88,22 \pm 0,83 |
| Controlli (**) | 97,60 \pm 0,60 | 91,82 \pm 3,40 | 2,36 \pm 0,05 | 0,57 \pm 0,01 | 77,76 \pm 3,12 |
| Ipervitaminosi A | 91,33 \pm 0,97(*) | 78,94 \pm 2,23(*) | 1,52 \pm 0,02(*) | 0,52 \pm 0,01(*) | 87,54 \pm 1,06(*) |

(*) Statisticamente significativo ($p < 0,05$) rispetto ai controlli.

(**) Ratti ad alimentazione appaiata con i rispettivi ratti trattati.

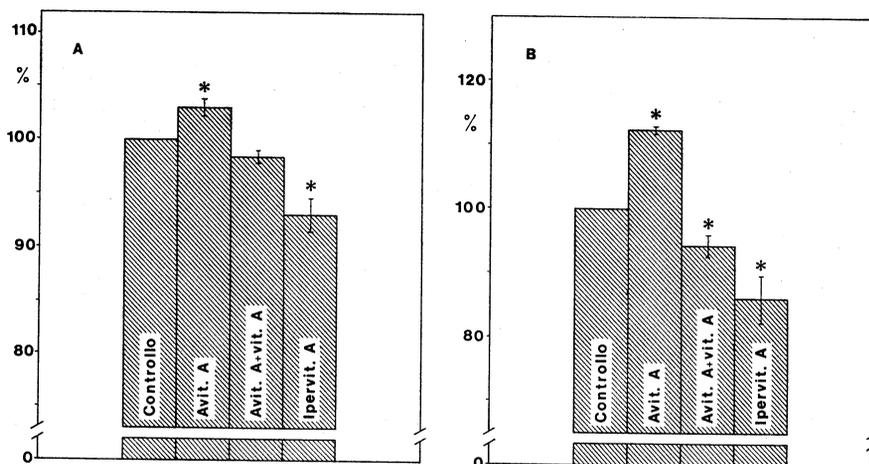


Fig. 1. - Variazioni %, rispetto ai controlli, dell'ampiezza (A) e della velocità di depolarizzazione (B) di potenziali d'azione intracellulari ventricolari, misurati a frequenza cardiaca spontanea nel cuore *in situ* di ratto. Medie \pm e. s. * Statisticamente significativo ($p < 0,05$) rispetto ai controlli.

velocità di depolarizzazione (15%) e della velocità di ripolarizzazione sia rapida (36%) che lenta (9%), nonché un aumento della durata (12%). Tutte queste modificazioni erano rilevabili sia a frequenza spontanea (454 battiti/min) che a frequenze aumentate.

In genere l'aumento di frequenza non determinava sia negli animali in avitaminosi che in quelli in ipervitaminosi A modificazioni dei parametri del potenziale d'azione diverse da quelle dei rispettivi controlli.

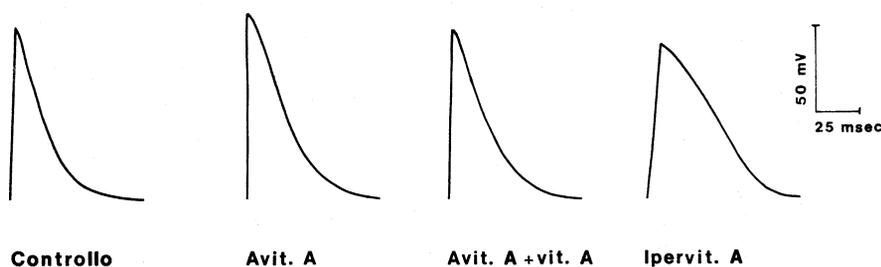


Fig. 2. - Disegno di tipici potenziali d'azione intracellulari ventricolari, misurati a frequenza cardiaca spontanea nel cuore *in situ* di ratto.

Per lo studio *sul nervo periferico* sono stati usati nervi sciatici isolati da due gruppi di ratti in differenti condizioni di avitaminosi A: avitaminosi *di grado normale*, cioè dello stesso tipo di quella descritta per il cuore, e *di grado spinto*, entrambe ottenute con l'uso di una dieta carente di vitamina A [21]. L'avitaminosi A *di grado spinto* era raggiunta protraendo il trattamento dietetico per più tempo. Alcuni animali di questo gruppo sono stati trattati con vitamina A palmitato, somministrata *per os* in quantità

corrispondente al fabbisogno giornaliero, per circa 20 giorni, fino ad ottenere cioè la regressione completa dei sintomi dell'avitaminosi.

L'alimentazione con la dieta carente comportava la riduzione della vitamina A nel fegato a piccole tracce, nel caso dell'avitaminosi A *di grado spinto*. Dopo somministrazione di vitamina A palmitato ai ratti in avitaminosi A *di grado spinto*, il contenuto epatico veniva pressoché normalizzato ($183,96 \pm 30,41 \mu\text{g}/\text{gr}$).

Su alcuni gruppi di nervi sciatici di ratti in avitaminosi A *di grado spinto* veniva determinato anche il contenuto in solfati [30] dell'estratto lipidico [31]. Tale contenuto subiva una lieve diminuzione (10%) rispetto ai controlli, non però statisticamente significativa.

Alcuni parametri funzionali del nervo sciatico (ampiezza e velocità del potenziale d'azione composito; periodo di refrattarietà assoluta e relativa) venivano valutati *in vitro* per mezzo di una tecnica elettrofisiologica convenzionale [32, 33], dopo incubazione del nervo in liquido di Tyrode ossigenato a 37° per 30 minuti.

TABELLA II

Ampiezza e velocità di conduzione del potenziale d'azione composito del nervo sciatico di ratto (Medie \pm e.s.).

| TRATTAMENTO | AMPIEZZA (mV) | VELOCITÀ DI CONDUZIONE (m/sec) |
|--|--------------------|--------------------------------|
| Controlli (**) | $5,4 \pm 0,47$ | $51,60 \pm 2,45$ |
| Avitaminosi A <i>di grado normale</i> | $3,8 \pm 0,41$ (*) | $51,06 \pm 2,36$ |
| Controlli (**) | $7,4 \pm 0,34$ | $47,25 \pm 1,27$ |
| Avitaminosi A <i>di grado spinto</i> | $4,5 \pm 0,24$ (*) | $41,66 \pm 1,06$ (*) |
| Controlli (**) | $7,0 \pm 0,42$ | $49,95 \pm 1,31$ |
| Avitaminosi A <i>di grado spinto</i> + vit. A (recupero) | $7,0 \pm 0,49$ | $45,60 \pm 1,75$ |

(*) Statisticamente significativo ($p < 0,05$) rispetto ai controlli.

(**) Ratti ad alimentazione appaiata con i rispettivi ratti trattati.

L'avitaminosi A causava (Tabella II e figg. 3, 4) modificazioni dei parametri funzionali del nervo, riguardanti soprattutto l'ampiezza del potenziale d'azione composito (che diminuiva del 30% e 40% rispettivamente nell'avitaminosi *di grado normale* e *di grado spinto*) e la velocità di conduzione (che diminuiva del 12%, solo però nell'avitaminosi *di grado spinto*). Il trattamento con vitamina A palmitato dei ratti in avitaminosi A *di grado spinto* (Tabella II e figg. 3, 4) riportava alla norma i valori alterati dei parametri misurati.

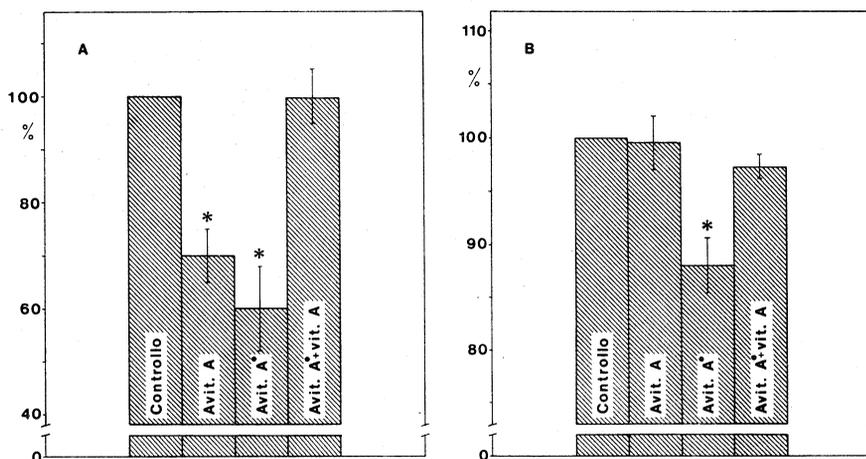


Fig. 3. - Variazioni %, rispetto ai controlli, dell'ampiezza (A) e della velocità di conduzione (B) di potenziali d'azione composti del nervo sciatico di ratto. Medie \pm e.s. * Statisticamente significativo ($p < 0,05$) rispetto ai controlli. Avit. A^{*} = avitaminosi A di grado spinto.

L'insieme dei risultati ottenuti sul miocardio e sul nervo sciatico sembra indicare che la presenza di determinati livelli di vitamina A nella compagine delle membrane plasmatiche dei tessuti eccitabili sia indispensabile per assicurare la loro integrità funzionale [1-6]. Infatti sia la mancanza che l'eccesso di questa vitamina determinavano sensibili modificazioni nell'insorgenza e

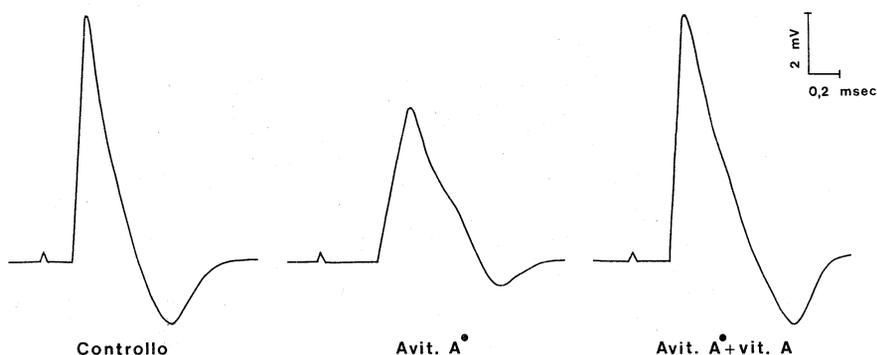


Fig. 4. - Disegno di tipici potenziali d'azione composti del nervo sciatico di ratto. Avit. A^{*} = avitaminosi A di grado spinto.

nelle caratteristiche dei potenziali d'azione. L'aumento della velocità di depolarizzazione del potenziale d'azione intracellulare cardiaco, conseguente all'avitaminosi A, depone per un'aumentata permeabilità delle membrane plasmatiche, durante la fase di depolarizzazione, agli ioni ed in particolare all'ione sodio. Al contrario, la diminuzione della velocità di depolarizzazione e di ripolarizzazione rapida e lenta del potenziale d'azione intracellulare delle cellule miocardiche conseguente all'ipervitaminosi A potrebbe considerarsi

espressione di una diminuzione delle permeabilità ioniche delle membrane durante il potenziale d'azione. Poiché i caratteri del potenziale d'azione cardiaco dei ratti in avitaminosi ed ipervitaminosi A non subivano, durante l'aumento di frequenza, modificazioni diverse da quelle dei relativi controlli, sembra possa escludersi che la vitamina A sia implicata nel metabolismo energetico della cellula. La vitamina A quindi limiterebbe la sua azione alla sola regolazione della permeabilità delle membrane. Nel suo insieme il comportamento del potenziale d'azione cardiaco nell'ipervitaminosi e nell'avitaminosi A depone per un'azione specifica della vitamina A nelle membrane delle cellule miocardiche in quanto la sua carenza e il suo eccesso determinano effetti opposti nell'ampiezza e nella velocità di depolarizzazione.

Anche l'ampiezza e la velocità di conduzione del potenziale d'azione composito del nervo sciatico sembrano essere in relazione con il contenuto di vitamina A nel nervo, dato che le loro modificazioni s'accenuano con il grado di avitaminosi A. Il fatto che nell'avitaminosi A, soprattutto in quella *di grado spinto*, il profilo del potenziale d'azione composito del nervo sciatico appaia più disperso nel tempo (fig. 4), suggerisce l'ipotesi che lo stato di carenza possa indurre ampie modificazioni nella struttura o nel numero delle singole fibre nervose che lo compongono. Quest'ipotesi, da noi avvalorata con misure di tipo elettrofisiologico, trova riscontro nelle gravi alterazioni nervose [34] ed in evidenti modificazioni morfologiche del tessuto nervoso [35-38], tipiche dello stato di carenza di axeroftolo.

La modesta diminuzione da noi messa in evidenza del contenuto in solfolipidi dei nervi dei ratti in avitaminosi A *di grado spinto* fa dubitare che la vitamina A possa intervenire nei processi di mielinizzazione del tessuto nervoso [20].

Va sottolineato che le modificazioni riscontrate nei parametri funzionali sia delle cellule del miocardio ventricolare che nel nervo sciatico di ratto appaiono essere specificamente indotte dalla carenza di vitamina A. Infatti esse erano reversibili per somministrazione di vitamina A e venivano valutate in confronto a ratti controlli che, per essere tenuti ad alimentazione appaiata con i trattati, risentivano di eventuali modificazioni aspecifiche inerenti alla condizione sperimentale scelta.

In base al complesso dei risultati comunicati in questa Nota, si può concludere che la vitamina A sembra avere un'azione a livello dei fenomeni dell'eccitabilità cardiaca e della funzionalità del tessuto nervoso periferico. Questa sua azione appare più in rapporto con la struttura dei tessuti eccitabili o delle loro membrane che con i processi del metabolismo cellulare.

BIBLIOGRAFIA

- [1] J. A. LUCY e J. T. DINGLE, « Nature », 204, 156 (1964).
- [2] J. T. DINGLE e J. A. LUCY, « Biol. Rev. », 40, 422 (1965).
- [3] G. A. J. PITT, « Int. Zeit. Vitaminforsch. », 36, 249 (1966).
- [4] N. S. T. LUI e O. A. ROELS, « Fedn Proc. », 28, 490 (1969).
- [5] C. R. SEWARD, G. V. MITCHELL e E. L. HOVE, « Am. J. Clin. Nutr. », 22, 1014 (1969).

- [6] J. P. MACK, N. S. T. LUI, O. A. ROELS e O. R. ANDERSON, « Biochim. biophys. Acta », 288, 203 (1972).
- [7] O. A. ROELS, O. R. ANDERSON, N. S. T. LUI, D. O. SHAH e M. E. TROUT, « Am. J. Clin. Nutr. », 22, 1020 (1969).
- [8] T. YONEMOTO e M. OH, « J. Vitaminol. », 15, 254 (1969).
- [9] O. A. ROELS, M. TROUT e A. GUHA, « Biochem. J. », 93, 23 (1964).
- [10] K. M. LEUTSKY e I. F. MESHCHYSHEN, « Ucrainski Biochimicnii Jurnal », 43, 215 (1971).
- [11] K. M. LEUTSKY, « Ucrainski Biochimicnii Jurnal », 42, 257 (1970).
- [12] J. T. DINGLE e J. A. LUCY, « Biochem. J. », 84, 611 (1962).
- [13] J. T. DINGLE, *Action of vitamin A on the stability of lysosomes in vivo and in vitro*. In A. V. S. de Reuck e M. L. Cameron (Eds.), « Ciba Foundation Symposium on Lysosomes », pp. 384-398, Churchill Ltd., London 1963.
- [14] A. M. GLAUERT, M. R. DANIEL, J. A. LUCY e J. T. DINGLE, « J. Cell Biol. », 17, 111 (1963).
- [15] M. R. DANIEL, J. T. DINGLE, A. M. GLAUERT e J. A. LUCY, « J. Cell Biol. », 30, 465 (1966).
- [16] C. A. PASTERNAK, S. K. HUMPHRIES e A. PIRIE, « Biochem. J. », 86, 382 (1963).
- [17] K. SUBBA RAO e J. GANGULY, « Biochem. J. », 98, 693 (1966).
- [18] B. MUKHERJI e B. K. BACHHAWAT, « Biochem. J. », 104, 318 (1967).
- [19] L. DE LUCA e G. WOLF, « Int. Zeit. Vitaminforsch. », 40, 284 (1970).
- [20] J. CLAUSEN, « Eur. J. Biochem. », 7, 575 (1969).
- [21] B. M. ERSHOFF e H. J. HERNANDEZ, « J. Nutr. », 70, 313 (1960).
- [22] T. MOORE e Y. L. WANG, « Biochem. J. », 37, VIII (1943).
- [23] K. RODHAL, « J. Nutr. », 41, 399 (1950).
- [24] T. MOORE, *Physiological requirements for vitamin A*. In T. Moore, « Vitamin A », pp. 225-228, Elsevier Publ. Comp., Amsterdam 1957.
- [25] ASS. VITAMIN CHEMISTS, Inc., *Vitamin A: Colorimetric method (Carr-Price blue color)*. In Ass. Vitamin Chemists, Inc. (Eds.), « Methods of Vitamin assay », pp. 70-79, 3rd ed., Intersci. Publ., New York 1966.
- [26] P. H. BENOIT, « C.r. Séanc. Soc. Biol. », 156, 1465 (1962).
- [27] G. RAPUZZI e G. RINDI, « Quart. J. exp. Physiol. », 52, 277 (1967).
- [28] B. F. HOFFMAN e P. F. CRANFIELD, *Electrophysiology of the heart*, McGraw-Hill Book Co., Inc., New York 1960.
- [29] G. RINDI e G. RAPUZZI, « Quart. J. exp. Physiol. », 51, 249 (1966).
- [30] E. MÅRTENSSON, « Biochim. biophys. Acta », 70, 1 (1963).
- [31] J. FOLCH, M. LEES e G. H. SLOANE STANLEY, « J. biol. Chem. », 226, 497 (1957).
- [32] C. CASELLA e L. G. DE CARO, « Arch. Sci. Biol. », 37, 229 (1953).
- [33] L. K. MILLER e L. IRVING, « Am. J. Physiol. », 204, 359 (1963).
- [34] T. MOORE, *Effects of vitamin A deficiency in animals. E - Lesions in the nervous system*. In W. M. Sebrell jr. e R. S. Harris (Eds.), « The Vitamins », pp. 257-259, vol. I, 2nd ed., Academic Press, New York 1967.
- [35] S. B. D. ABERLE, « J. Nutr. », 7, 445 (1934).
- [37] E. MELLANBY, « J. Physiol. », 94, 380 (1938).
- [37] W. H. K. COETZEE, « Biochem. J. », 45, 628 (1949).
- [38] J. MCC. HOWELL e J. N. THOMPSON, « Acta neuropath. (Berl.) », 16, 285 (1970).