

60. Anne BELOFF CHAIN; Daniele BOVET; Ernst Boris CHAIN e Francesco POCCHIARI — **Metabolismo del glucosio - 1 - fosfato in conigli normali e diabetici da allossana.**

Riassunto. — Gli Autori hanno paragonato il metabolismo del glucosio e del glucosio-1-fosfato in conigli normali e in conigli diabetici da allossana. Si è trovato che il glucosio-1-fosfato iniettato per via endovenosa sparisce rapidamente dal sangue dei conigli normali e di quelli diabetici da allossana, contrariamente al glucosio che, mentre è rapidamente metabolizzato nel coniglio normale, permane in circolo per un lungo periodo nel coniglio diabetico.

Résumé. — Les AA. ont comparé le métabolisme du glucose et du glucose-1-phosphate chez des lapins normaux et chez des lapins diabétiques par alloxane. Les résultats ont montré qu'alors que chez des lapins normaux le glucose est rapidement éliminé tandis qu'il se retrouve longuement dans le torrent circulatoire chez les lapins diabétiques, le glucose-1-phosphate injecté par voie i. v. disparaît tout aussi rapidement du sang des lapins normaux comme des lapins diabétiques.

Summary. — A comparative study has been made of the metabolism of glucose and glucose-1-phosphate in normal and alloxan diabetic rabbits. It has been found that intravenously injected glucose-1-phosphate disappears rapidly from the blood of normal and alloxan diabetic rabbits, in contrast to glucose, which while being rapidly metabolised in the normal rabbit remains circulating in the blood of a diabetic rabbit for a prolonged period.

Zusammenfassung. — Die Verfasser vergleichen den Stoffwechsel der glukose mit dem des glukose-1-phosphates in normalen und alloxandiabetischen kaninchen. Es wird festgestellt, dass intravenös eingespritztes glukose-1-phosphat schnell aus dem blute der normalen und auch der alloxandiabetischen kaninchen verschwindet. Die glukose dagegen wird in normalen kaninchen rasch metabolisiert, währendem sie lange im kreislauf diabetischer kaninchen verbleibt.

Subito dopo la scoperta dell'insulina fu dimostrato ⁽¹⁾ che la quantità di fosforo inorganico presente nel sangue diminuisce negli animali normali dopo un'iniezione di insulina e glucosio, e questo fatto fu più tardi confermato con l'aiuto di sostanze marcate radioattive ⁽²⁾. Queste

osservazioni hanno suggerito che il modo di azione dell'insulina riguarda la fosforilazione dei carboidrati o dei loro intermediari.

Per verificare tale ipotesi è stato deciso di studiare il destino in vivo di differenti intermediari fosforilati del metabolismo del glucosio

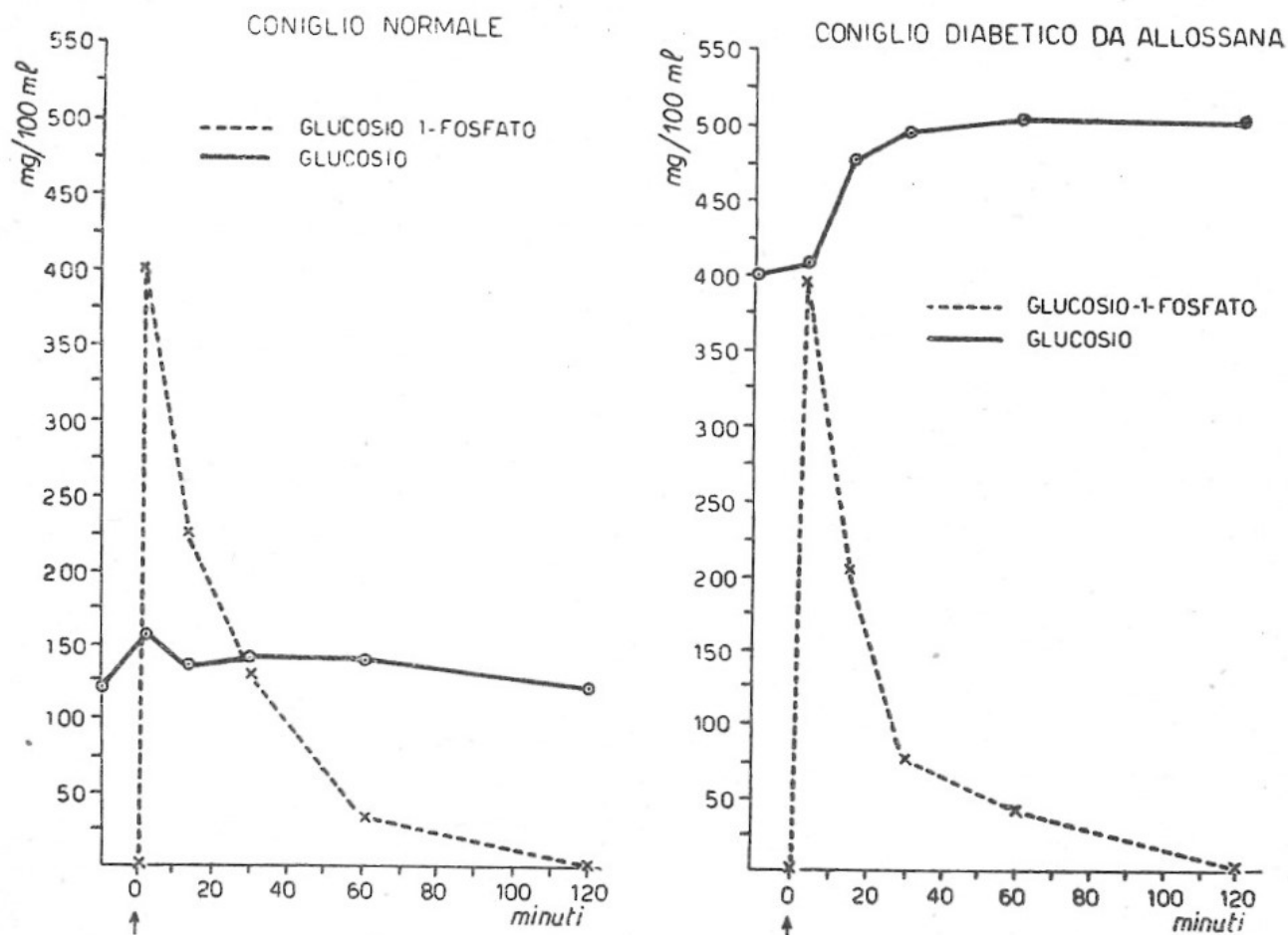
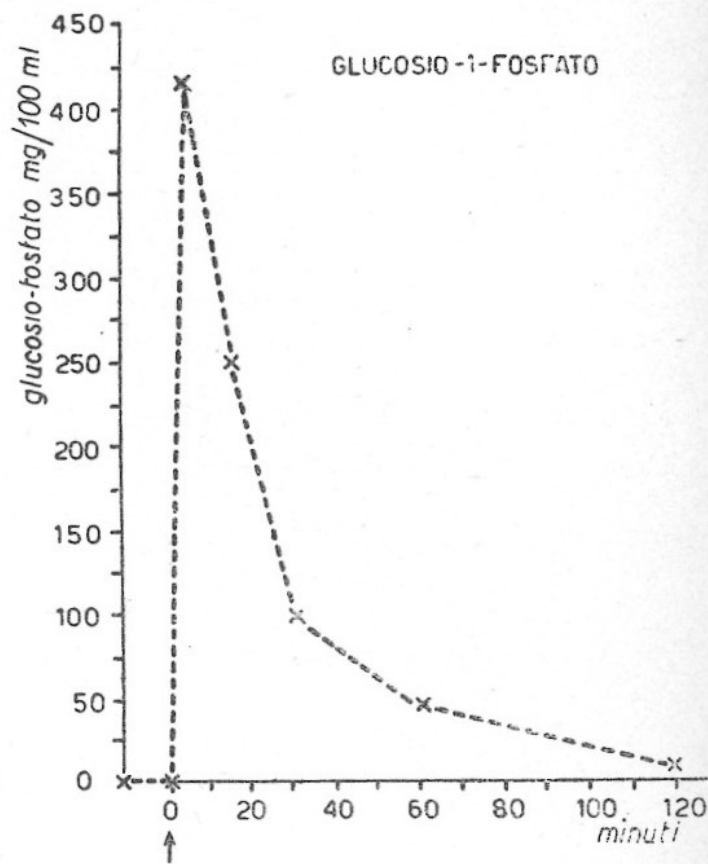
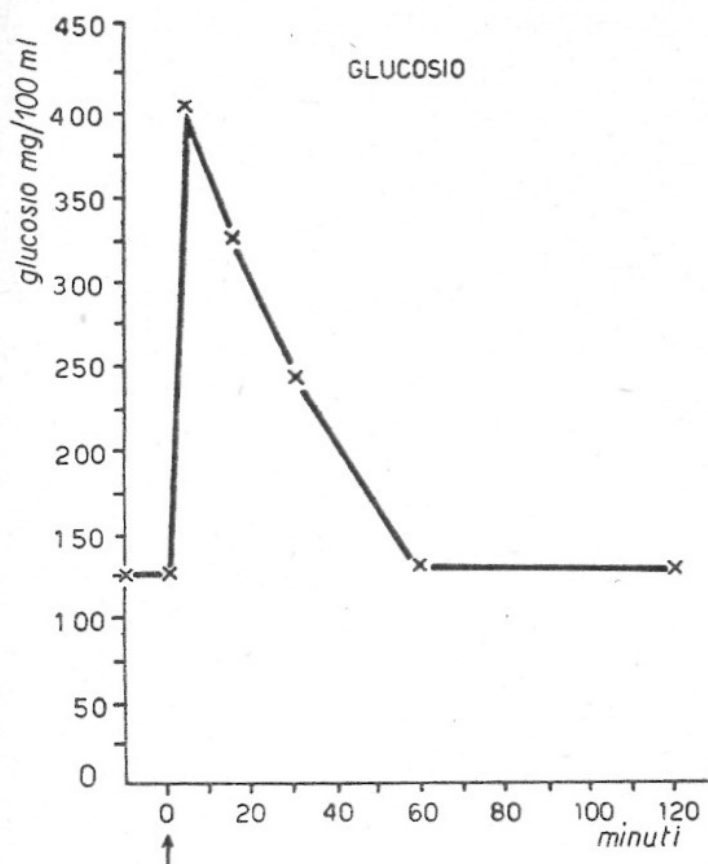


Fig. 1 - Velocità della scomparsa dal sangue del glucosio-1-fosfato (1,5 g/Kg), iniettato endovena in conigli normali e diabetici da allossana.

in animali normali e diabetici da allossana. Queste ricerche sono state iniziate col glucosio-1-fosfato, che è ritenuto uno dei primi derivati nei quali il glucosio viene trasformato dopo essere entrato nella cellula.

E' stato trovato che il glucosio-1-fosfato iniettato endovena in conigli (1,5 g/Kg) rapidamente abbandona il sangue ed entra nei tessuti sia in conigli normali che in quelli diabetici da allossana, e la velocità di scomparsa è stata trovata la stessa in entrambi. Una parte del glucosio-1-fosfato iniettato è eliminato nelle urine. Tale quantità eliminata è circa il 30% in media, sia in conigli normali che in quelli diabetici da allossana. La velocità di scomparsa dal sangue del glucosio-1-fosfato è pertanto in netto contrasto col comportamento del glucosio che, mentre viene rapidamente metabolizzato nei conigli normali, rimane circolante per prolungato tempo nel sangue dei conigli diabetici (figg. 1 e 2). E' quindi

CONIGLI NORMALI



CONIGLI DIABETICI DA ALLOSSANA (★)

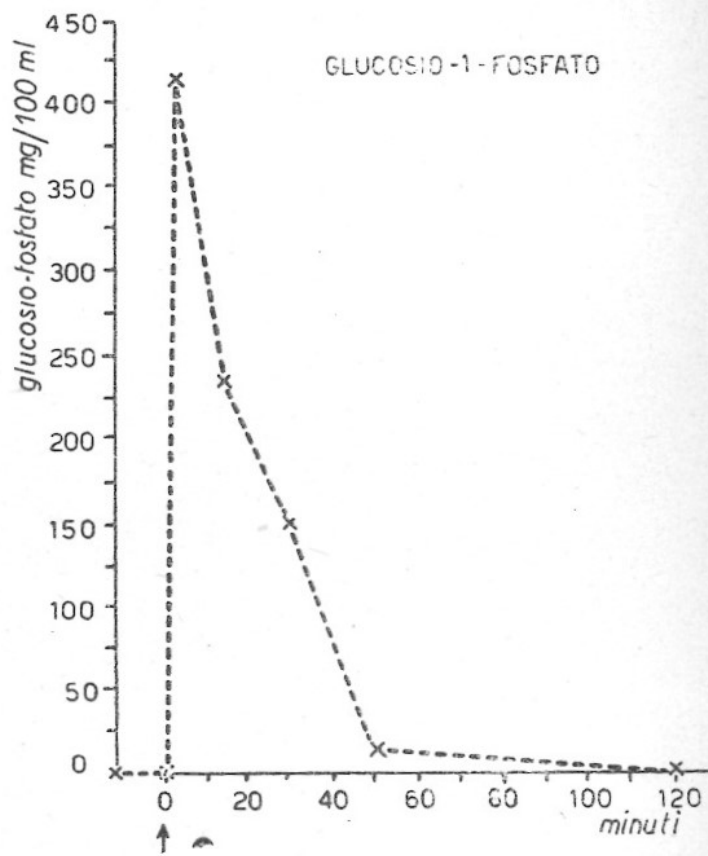
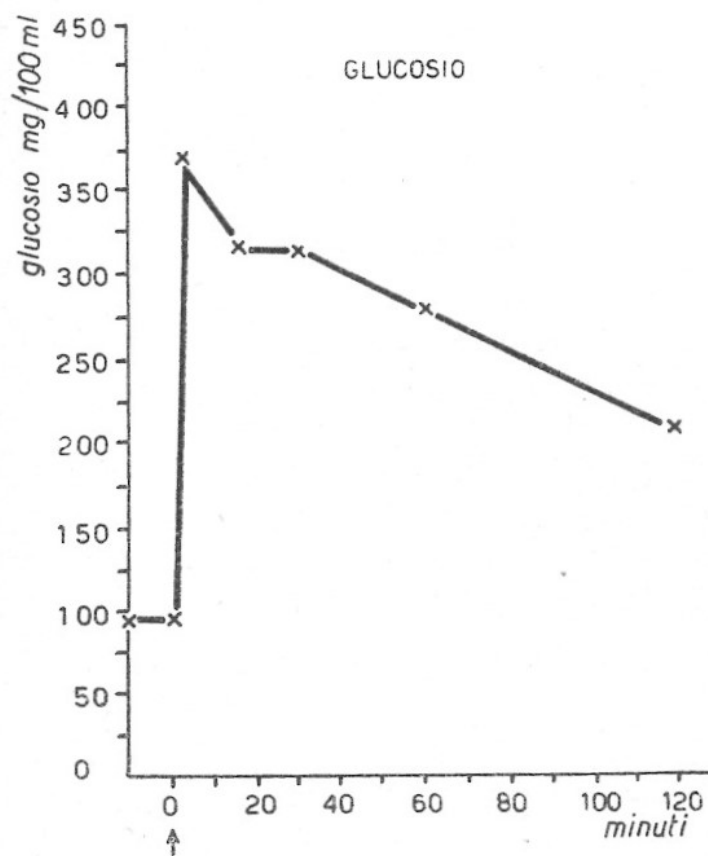


Fig. 2 - Velocità della scomparsa dal sangue di glucosio e di glucosio-1-fosfato (1,5 g/Kg), iniettato endovena in conigli normali e diabetici da allossana.

(*) I conigli diabetici sono stati mantenuti per 48 ore prima dell'esperimento a dieta priva di carboidrati, per ridurre il glucosio del sangue al livello normale.

chiaro che quando il glucosio è nella forma libera non è capace di entrare nelle cellule nei conigli diabetici, mentre lo può fare facilmente se fosforilato in posizione 1.

Questi esperimenti devono essere considerati come un'ulteriore indicazione che una delle funzioni dell'insulina riguarda la fosforilazione dei carboidrati, senza la quale essi non possono essere utilizzati dai tessuti.

PARTE SPERIMENTALE.

Glucosio-1-fosfato. — Venne preparato secondo il metodo di McCREADY e HASSID (³), adoperando come resina cationica lo « Zeo Karb 215 » invece dell'Amberlite I R 100 e come resina anionica la « De Acidite B » invece dell'Amberlite I R 4.

Gli esperimenti vennero eseguiti su 8 conigli normali e 12 conigli diabetici, ai quali furono iniettati endovena 1,5 g/Kg di glucosio-1-fosfato in soluzione al 15%; è stata inoltre utilizzata la dose di 1 g/Kg di glucosio negli esperimenti di controllo.

L'allossana (200 mg/Kg) venne iniettata 4-8 giorni prima dell'esperimento in conigli che erano stati nutriti con una normale dieta di carboidrati (crusca) e verdura, eccetto in quei casi in cui fosse stato necessario ridurre il livello del glucosio nel sangue ad un valore paragonabile a quello dei conigli normali. A tale fine i conigli diabetici venivano mantenuti per 48 ore con dieta priva di carboidrati prima degli esperimenti.

I conigli furono tenuti in gabbie per il metabolismo e i campioni delle urine raccolti 12 ore prima e per un periodo di 24 ore seguenti l'iniezione. In questi campioni il glucosio-1-fosfato veniva determinato analizzando il fosforo inorganico ed il fosforo idrolizzato in dieci minuti in H_2SO_4 N a 100°.

Per l'analisi del glucosio-1-fosfato nel sangue, campioni di 2,5 ml di sangue vennero prelevati direttamente dal cuore (aggiungendo eparina per impedire la coagulazione) immediatamente prima e a intervalli di 3, 15, 20, 60, 120 minuti dopo l'iniezione. 2 ml di acido tricloacetico 10% vennero aggiunti a 2 ml di sangue e centrifugati. Nel filtrato, libero di proteine, veniva determinato il fosforo inorganico ed il fosforo idrolizzato in dieci minuti in H_2SO_4 N a 100°. Le determinazioni di fosforo sono state eseguite secondo il metodo di BERENBLUM e CHAIN (⁴).

Le determinazioni di glucosio sono state fatte su 0,1 ml di sangue secondo il metodo di MILLER e VAN SLYKE (⁵).

BIBLIOGRAFIA

- (¹) N. R. BLATHERWICK, M. BELL e E. HILL, « Journ. Biol. Chem. », 61, 241 (1924); G. A. HARROP Jr. e E. M. BENEDICT, « Journ. Biol. Chem. », 59, 683 (1924); W. A. PERLZWEIG, E. LATHAM e C. S. KEEFER, « Proc. Soc. Exp. Biol. and. Med. », 21, 33 (1923-24); W. B. WIGGLESWORTH, C. E. WOODROY, W. SMITH e L. B. WINTER, « Journ. Physiol », 57, 447 (1922-23); L. B. WINTER e W. SMITH, « Journ. Physiol », 58, 327 (1923-24); R. ELLSWORTH e A. WEINSTEIN, « Bull. John Hopkins Hosp. », 53, 21 (1923); A. BOLLINGER e F. W. HARTMAN, « Journ. Biol. Chem. », 64, 91 (1925); S. SOSKIN, R. LEVINE e O. HECHTER, « Am. Journ. Physiol », 134, 40 (1941).
- (²) N. O. KAPLAN e D. M. GREENBERG, « Am. Journ. Physiol », 140, 598 (1941).
- (³) R. M. MCCREADY e W. Z. HASSID, « Journ. Am. Chem. Soc. », 66, 560 (1944).
- (⁴) I. BERENBLUM e E. B. CHAIN, « Bioch. Journ. », 32, 295 (1938).
- (⁵) B. F. MILLER e D. D. VAN SLYKE, « Journ. Biol. Chem. », 114, 583 (1936).
-