

64. A. BELOFF-CHAIN, E. B. CHAIN, R. CATANZARO e L. LONGINOTTI. — Effetto degli ioni fosfato e bicarbonato sul destino del glucosio-1-fosfato e del glucosio nel diaframma isolato di ratto. (*)

Riassunto. — 1) Se il G-1-P è incubato in presenza di diaframma isolato di ratto in un mezzo tamponato da bicarbonati o da tris, l'accumulo di fruttosio-fosfato nel mezzo è maggiore e la sintesi di glicogeno minore di quanto avvenga in un mezzo tamponato da fosfati.

2) L'utilizzazione del glucosio e la sintesi di glicogeno da glucosio da parte del diaframma di ratto sono considerevolmente maggiori in un mezzo tamponato da bicarbonati, leggermente maggiori in un mezzo tamponato da tris, di quello che non sia in un mezzo tamponato da fosfati.

3) E' stata osservata una glicogenolisi nel diaframma di ratto incubato con G-6-P sia che il mezzo sia stato tamponato con bicarbonati sia che sia stato tamponato con fosfati.

Résumé. — 1) Quand du glucose-1-phosphate est incubé en présence du diaphragme isolé du rat, l'accumulation de l'ester fructose-phosphorique est plus importante et la synthèse du glycogène plus faible dans un milieu tamponné par du bicarbonate ou du « tris », que dans un milieu tamponné par un phosphate.

2) L'utilisation du glucose et la synthèse du glycogène à partir du glucose par le muscle du diaphragme du rat sont plus élevées dans un tampon « tris » et surtout dans un tampon bicarbonate que dans un tampon phosphate;

3) Le muscle du diaphragme du rat incubé avec du glucose-6-phosphate est le siège d'une glycogénolyse, quel que soit le tampon (bicarbonate ou phosphate) employé.

Summary. — 1) When glucose-1-phosphate was incubated with isolated rat diaphragm muscle in a bicarbonate or tris buffered medium there was a greater accumulation of fructose-phosphate ester in the medium and a lower synthesis of glycogen than in a phosphate buffered medium;

2) The utilization of glucose and the synthesis of glycogen from glucose by rat diaphragm muscle was increased considerably in a bicar-

(*) Il presente lavoro è pubblicato su questi Rendiconti d'accordo con il Comitato di Redazione di « Biochimica et Biophysica Acta ».

bonate and slightly in a tris buffered medium as compared with the phosphate buffered medium;

3) A glycogenolysis was observed in rat diaphragm muscle incubated with glucose-6-phosphate regardless of whether the medium was buffered with bicarbonate or phosphate.

Zusammenfassung. — 1) Wenn Glucose-1-Phosphat mit isoliertem Diaphragmamuskel der Ratte in Bicarbonat-oder Tris-puffer inkubiert wurde, mehr Fructose-phosphatester in dem Medium angehäuft und weniger Glykogen synthetisiert als in einem Phosphatpuffer;

2) Der Glucoseverbrauch und die Glykogensynthese aus Glucose durch den Diaphragmamuskel der Ratte waren, im Vergleich zu einem mit Phosphat gepufferten Medium, in einem mit Bikarbonat gepufferten Medium bedeutend, in einem mit Tris gepufferten Medium ein wenig erhöht;

3) Im Diaphragmamuskel der Ratte konnte bei Inkubation mit Glucose-6-phosphat Glykogenolyse beobachtet werden und zwar sowohl in einem mit Bikarbonat als in einem mit Phosphat gepufferten Medium.

In una precedente pubblicazione di questo laboratorio ⁽¹⁾ sono stati descritti i risultati di esperienze sul metabolismo degli esteri esosoforici e del glucosio nel diaframma isolato di ratto incubato in un mezzo di cloruro di sodio e di fosfati. Queste ricerche sono state estese studiando l'influenza della composizione anionica del mezzo di incubazione sul metabolismo di questi substrati.

STADIE e ZAPP ⁽²⁾ hanno riferito che variando la concentrazione del fosfato da 0 a 0,05 M, la sintesi del glicogeno nel diaframma isolato di ratto, non veniva influenzata, ma che a concentrazioni maggiori di fosfato la sintesi veniva leggermente diminuita. Questi risultati sono stati confermati da VILLEE, DEANE e HASTINGS ⁽³⁾, che hanno descritto inoltre un aumento nella scomparsa del glucosio ad alte concentrazioni di fosfato (0,80 M e 0,160 M).

Quando il presente lavoro era stato già completato, è stato notato dagli Autori l'articolo di ZIERLER, LEVY e ANDRES ⁽⁴⁾, nel quale veniva dimostrato che il glucosio-1-fosfato incubato in un mezzo tamponato da fosfato di potassio era trasformato dal diaframma di ratto in una miscela di esosofosfati, costituita probabilmente da glucosio-6-fosfato, fruttosio-6-fosfato e fruttosio-1-6-difosfato, e che, inoltre si aveva forma-

zione di acido lattico. Veniva dimostrato ancora, che gli enzimi glicolitici che causano la dissimilazione del glucosio-1-fosfato sono anche presenti nel liquido, privo di cellule, effluente dal muscolo. Secondo i sopra riportati Autori inoltre, non si ha nessuna sintesi di glicogeno in presenza di glucosio-1-fosfato, risultato che può essere attribuito al fatto che le esperienze sono state eseguite in presenza di basse concentrazioni di substrato ($25-50 \mu\text{M}$ per cm^3 3 di mezzo) e che conferma i nostri risultati precedentemente pubblicati ⁽¹⁾.

Nel presente lavoro sono state eseguite esperienze sul metabolismo del glucosio-1-fosfato, del glucosio-6-fosfato e del glucosio da parte del diaframma isolato di ratto incubato in tamponi di fosfati, di bicarbonati/ CO_2 e di tris (tri-idrossimetil-amminometano).

PARTE SPERIMENTALE

PREPARAZIONE DEI PRODOTTI

Il glucosio-1-fosfato (G-1-P), il glucosio-6-fosfato (G-6-P) ed i loro sali di sodio sono stati preparati come precedentemente descritto ⁽¹⁾.

METODI ANALITICI

Il glucosio è stato determinato col metodo di MILLER e VAN SLYKE ⁽⁵⁾.

Il fosforo è stato determinato usando il metodo di BERENBLUM e CHAIN ⁽⁶⁾.

Il glicogeno è stato determinato secondo il metodo di GOOD, KRAMER e SOMOGYI ⁽⁷⁾ modificato da WALAAS e WALAAS ⁽⁸⁾.

Il G-1-P è stato determinato misurando il fosforo inorganico presente prima e dopo 10 minuti di idrolisi con acido solforico N 1 a 100° .

Il fruttosio-fosfato è stato determinato secondo il metodo di ROE ⁽⁹⁾.

Il consumo di ossigeno è stato misurato mediante l'usuale tecnica manometrica di WARBURG.

PROCEDIMENTO

Il procedimento sperimentale è stato simile a quello precedentemente descritto ⁽¹⁾.

Ratti maschi di razza WISTAR del peso di g. 100-180, sono stati uccisi mediante decapitazione.

I diaframma (ognuno del peso di circa mg. 250) sono stati rapidamente rimossi dal ratto, divisi in due, tre o quattro parti approssimativamente uguali, ciascuna delle quali, dopo pesata, è stata trasferita ad una vaschetta di WARBURG contenente cm^3 3 di mezzo freddo a pH 6,8-7,0. In tutte le esperienze i pezzi di diaframma provenienti dal medesimo ratto sono stati incubati in due o tre mezzi aventi la seguente composizione:

Mezzo di bicarbonati: NaHCO_3 0,01 M, NaCl 0,11 M, MgCl_2 0,005 M. Una miscela costituita dal 95% di O_2 e dal 5% di CO_2 è stata fatta passare attraverso il mezzo, prima dell'aggiunta del muscolo e dopo che le vaschette sono state attaccate ai manometri, al fine di portare il pH al valore desiderato.

Mezzo di fosfati ⁽²⁾: Na_2HPO_4 0,04 M, NaCl 0,08 M, MgCl_2 0,005 M. Il mezzo è stato ossigenato per 5 minuti.

Mezzo di tris: Tris(idrossimetil)amminometano 0,016 M ⁽¹⁰⁾, NaCl 0,104 M, MgCl_2 0,005 M. Il mezzo è stato ossigenato per 5 minuti.

SINTESI DEL GLICOGENO.

Il procedimento è stato identico a quello precedentemente impiegato ⁽¹⁾, eccettuato il fatto che i pezzi di diaframma sono stati fatti digerire in cm^3 0,3 invece che in cm^3 2 di KOH al 30%.

SCOMPARSA DEL SUBSTRATO

Campioni del mezzo sono stati prelevati prima e dopo l'incubazione ed analizzati con i metodi sopra descritti.

RISULTATI

ANALISI DEL GLICOGENO

Si noterà che nei risultati qui di seguito trascritti i valori della sintesi del glicogeno che nel presente lavoro sono stati determinati col metodo di WALAAS e WALAAS ⁽⁸⁾ sono molto più alti di quelli dati in una precedente pubblicazione ⁽¹⁾ nella quale era stato adottato il metodo di STADIE, HAUGAARD e MARSH ⁽¹¹⁾. E' stato quindi deciso di confrontare questi due metodi di analisi del glicogeno nel seguente modo: in due delle quattro parti, approssimativamente uguali, nelle quali è stato diviso un diaframma di ratto, il contenuto di glicogeno è stato determinato rispettivamente col metodo di Stadie e coll. ⁽¹⁰⁾ (in seguito

chiamato macrometodo) e col metodo di WALAAS e WALAAS (micrometodo); le due rimanenti parti di diaframma sono state incubate in presenza del 2% di glucosio in un mezzo di fosfati con il procedimento sopra descritto; alla fine del periodo di incubazione il contenuto di glicogeno dei due pezzi è stato determinato rispettivamente con il macro ed il micrometodo. I risultati di queste esperienze effettuate su 10 ratti, riportati nella Tabella I, mostrano che il micrometodo rispetto all'altro metodo dà dei risultati solo leggermente più alti nella determinazione del contenuto iniziale di glicogeno del muscolo, ma risultati assai maggiori nella determinazione del glicogeno presente dopo l'incubazione del muscolo con glucosio.

Questo risultato è interessante in quanto mostra una marcata differenza tra il comportamento del glicogeno presente inizialmente nel diaframma e quello formato dopo incubazione con glucosio.

Analisi in doppio del contenuto di glicogeno dei pezzi del diaframma prima e dopo l'incubazione con glucosio non differirono mai più del 10 % per ciascun metodo d'analisi. Questo è stato dimostrato in esperienze eseguite su 6 ratti per il metodo di STADIE e coll. ⁽¹¹⁾, e su 8 ratti per il metodo di WALAAS e WALAAS ⁽⁸⁾.

TABELLA I

Glicogeno del diaframma di ratto determinato secondo STADIE e coll. ⁽¹⁰⁾ e secondo WALAAS e WALAAS ⁽⁸⁾

[Il diaframma di ratto è stato incubato per 90 minuti a 37° in cm³ 3 di mezzo. Le medie dei valori sono date $\pm$ S.E.M. Concentrazione del substrato: 2%. Si indica con macro-metodo il metodo di STADIE e coll. ⁽¹⁰⁾ e con micro-metodo quello di WALAAS e WALAAS ⁽⁸⁾].

Numero dei ratti	Contenuto iniziale di glicogeno del diaframma (mg./100mg di peso umido)		Contenuto di glicogeno del diaframma dopo incubazione con glucosio (mg./100 mg. di peso umido)	
	Macrometodo	Micrometodo	Macrometodo	Micrometodo
10	0,09 $\pm$ 0,005	0,108 $\pm$ 0,005	0,157 $\pm$ 0,008	0,261 $\pm$ 0,015

DESTINO DEL G-1-P

Scomparsa del substrato. Si è trovato che quando il G-1-P (0,2%)* è incubato con mg. 100 di diaframma di ratto per 90 minuti a 37° in un

(*) Le concentrazioni degli esosofosfati sono espresse sempre in mg di glucosio o di fruttosio presenti.

mezzo di bicarbonati, scompare circa il 70% del substrato originariamente presente (mg. 6). Le esperienze effettuate precedentemente ⁽¹⁾ avevano mostrato che solamente il 12% circa del substrato scompariva nelle condizioni sopradette ed in un mezzo di fosfati.

Formazione di fruttosio-fosfato da G-1-P. I risultati di queste esperienze sono riportati nella Tabella II. Il termine fruttosio-fosfato è usato per indicare la sostanza misurata col metodo di ROE ⁽⁹⁾, poichè nessun tentativo è stato fatto per determinare la natura di tale estere. Sembra probabile che, in accordo con i risultati di ZIERLER e coll. ⁽⁴⁾, si formi una miscela di fruttosio-6-fosfato e di fruttosio-1-6-difosfato. I risultati mostrano che l'accumulo di fruttosio-fosfato è stato molto più grande in un mezzo di bicarbonati e di tris di quanto non sia avvenuto in un mezzo di fosfati. Questi risultati possono essere spiegati dall'osservazione di CORI e coll. ⁽¹²⁾ secondo la quale il tampone di fosfati inibisce la fosfoglicomutasi, enzima che catalizza la conversione del G-1-P in G-6-P negli estratti di tessuto ⁽¹³⁾. Come è stato precedentemente dimostrato ⁽¹⁾ il G-6-P forma rapidamente in presenza del diaframma di ratto una miscela di equilibrio con il F-6-P. Da questi risultati sembrerebbe quindi che in presenza del diaframma il grande aumento nella scomparsa del G-1-P (0,2%) riscontrata in un mezzo di bicarbonati in relazione a quella riscontrata in un mezzo di fosfati possa essere attribuito al cresciuto accumulo di altri esosofosfati. Aumentando la concentrazione del G-1-P oltre lo 0,2% si ha soltanto in un mezzo di bicarbonati un aumento relativamente piccolo nella formazione del fruttosio-fosfato. Questo indica che la quantità presente dell'enzima responsabile di questa conversione è il fattore limitante nelle condizioni di queste esperienze.

TABELLA II

Influenza della composizione del mezzo di incubazione sulla formazione del fruttosio-fosfato da G-1-P da parte del diaframma isolato di ratto.

(Il diaframma isolato di ratto (circa mg. 100 di peso umido) è stato incubato per 90 minuti a 37° in cm³ 3 di mezzo. Le medie dei due valori sono date $\pm$ S.E.M.).

Numero dei ratti	Concentrazione del substrato %	Fruttosio-fosfato formato nel mezzo (mg/100 mg. di peso umido di diaframma)		
		Mezzo di tris	Mezzo di bicarbonati	Mezzo di fosfati
8	0,2	—	$1,43 \pm 0,22$	$0,39 \pm 0,03$
9	2	—	$1,80 \pm 0,16$	$0,76 \pm 0,12$
5	2	$1,24 \pm 0,06$	—	$0,62 \pm 0,10$

La fosfoglicomutasi sembra che si diffonda velocemente dal diaframma al mezzo come è stato precedentemente mostrato nel caso della fosfoesosoisomerasi (¹). Così, agitando il diaframma per 30 minuti in cm³ 3 di mezzo di bicarbonati, si è potuto ottenere un estratto attivo di fosfoglicomutasi che incubato con G-1-P (2%), ha mostrato approssimativamente il 70% dell'attività del diaframma intatto.

Sintesi del glicogeno. I risultati nella Tabella III mostrano che in assenza di ioni fosfato, cioè in un mezzo di bicarbonati o di tris, ha luogo una piccola sintesi di glicogeno da G-1-P al 2% in paragone a quella osservata in un mezzo di fosfati.

L'insulina non influenza la sintesi di glicogeno da G-1-P in alcuno dei tre mezzi studiati.

TABELLA III

Influenza della composizione del mezzo di incubazione sulla glicogenesi da G-1-P da parte del diaframma isolato di ratto.

(Il diaframma di ratto (circa mg. 100 di peso umido) è stato incubato per 90 minuti a 37° in cm³ 3 di mezzo. Le medie dei valori sono date $\pm$ S.E.M. Concentrazione del substrato: 2%. La sintesi del glicogeno indica l'aumento di glicogeno dal suo valore iniziale).

Numero dei ratti	Contenuto iniziale di glicogeno del diaframma (mg./mg. 100 di peso umido)	Sintesi di glicogeno (mg./mg. 100 di peso umido di diaframma)		
		Mezzo di tris	Mezzo di bicarbonati	Mezzo di fosfati
12	0,14 $\pm$ 0,01	—	0,096 $\pm$ 0,01	0,36 $\pm$ 0,02
5	0,16 $\pm$ 0,02	0,076 $\pm$ 0,02	—	0,26 $\pm$ 0,02

Consumo di ossigeno. E' stato precedentemente mostrato (¹) che il G-1-P (2%) aumenta il consumo di ossigeno del diaframma isolato di

TABELLA IV

Consumo di ossigeno da parte del diaframma di ratto in presenza di G-1-P e di glucosio. (I risultati sono dati come μ l. di O₂/mg. 100 di peso umido di diaframma in 90 minuti a 37° in O₂. Le medie dei valori sono date $\pm$ S.E.M. Concentrazione del substrato: 2%).

Numero dei ratti	Substrato	Consumo di ossigeno (μ)	
		Mezzo di fosfati	Mezzo di tris
5	G-1-P	285 $\pm$ 25	295 $\pm$ 27
5	Glucosio	186 $\pm$ 5,7	169 $\pm$ 9,7

ratto immerso in un tampone di fosfati. Dai risultati riportati nella Tabella IV è evidente, che, in presenza di G-1-P (2%) il consumo di ossigeno è lo stesso sia in un mezzo di fosfati che in un mezzo di tris, ed in tutti e due i casi esso è molto più alto di quanto non si abbia in presenza di glucosio (2%).

DESTINO DEL GLUCOSIO

Scomparsa del substrato. Dai risultati riportati nella Tabella V, è evidente che la scomparsa del glucosio (0,2%) è molto più alta in bicarbonati e leggermente più alta in tris di quanto non sia in fosfati.

TABELLA V

Influenza della composizione del mezzo di incubazione sull'utilizzazione del glucosio da parte del diaframma isolato di ratto.

(Il diaframma di ratto è stato incubato per 90 minuti a 37° in cm³ 3 di mezzo. Le medie dei valori sono date $\pm$ S.E.M.).

Numero dei ratti	Glucosio scomparso del mezzo (mg./mg. 100 di peso umido)		
	Mezzo di bicarbonati	Mezzo di tris	Mezzo di fosfati
9	1,62 $\pm$ 0,20	1,01 $\pm$ 0,06	0,80 $\pm$ 0,07

Sintesi del glicogeno. I risultati di queste esperienze sono riportati nella Tabella VI. L'esperienza 1 mostra che la sintesi di glicogeno da glucosio è molto più alta in un mezzo di bicarbonati di quello che non sia in un mezzo di fosfati *.

Nell'esperienza 2, nella quale il muscolo è stato incubato rispettivamente in un mezzo di tris e di fosfati, la sintesi è stata di nuovo più bassa nell'ultimo mezzo, ma la differenza tra i due mezzi è stata molto meno evidente. Tali risultati sono stati confermati nell'esperienza 3, nella quale il diaframma è stato diviso in 4 parti all'incirca uguali; una di queste parti è stata utilizzata per la determinazione del contenuto

(*) Questi risultati sono stati confermati determinando la radioattività del glicogeno isolato in un'esperienza (che sarà descritta altrove) nella quale il diaframma è stato incubato rispettivamente in un mezzo di fosfati e di bicarbonati in presenza di glucosio uniformemente marcato ¹⁴C.

TABELLA VI

Influenza della composizione del mezzo di incubazione sulla glicogenesi da glucosio da parte del diaframma isolato di ratto.

(Il diaframma di ratto è stato incubato per 90 minuti a 37° in cm³ 3 di mezzo. Le medie dei valori sono date $\pm$ S.E.M. Concentrazione del substrato: 2%. La sintesi del glicogeno indica l'aumento del glicogeno dal valore iniziale).

Espe- rienze	Numero dei ratti	Contenuto iniziale di glicogeno del diaframma (mg./100 mg. di peso umido)	Sintesi di glicogeno (mg./100 mg. di peso umido di diaframma)		
			Mezzo di tris	Mezzo di bicarbonati	Mezzo di fosfati
1	12	0,11 $\pm$ 0,015	—	0,63 $\pm$ 0,07	0,29 $\pm$ 0,04
2	5	0,065 $\pm$ 0,01	0,32 $\pm$ 0,01	—	0,22 $\pm$ 0,03
3	5	0,093 $\pm$ 0,03	0,40 $\pm$ 0,02	0,56 $\pm$ 0,02	0,27 $\pm$ 0,03

iniziale di glicogeno, e le altre tre sono state rispettivamente incubate in un mezzo di bicarbonati, di tris e di fosfati.

In due esperienze è stata determinata l'influenza dell'insulina sulla sintesi di glicogeno da glucosio rispettivamente in un mezzo di fosfati e di bicarbonati; i risultati sono riportati nella Tabella VII dalla quale appare che il mezzo non ha notevole influenza sull'effetto dell'insulina.

TABELLA VII

Influenza della composizione del mezzo di incubazione sull'effetto dell'insulina sulla glicogenesi da glucosio da parte del diaframma isolato di ratto.

(Il diaframma di ratto è stato incubato per 90 minuti a 37° in cm³ 3 di mezzo. Concentrazione del substrato: 2%. La sintesi di glicogeno indica l'aumento di glicogeno dal valore iniziale. Ciascuna linea rappresenta i risultati di un'esperienza eseguita con il diaframma di un ratto).

Espe- rienze	Mezzo	Sintesi di glicogeno (mg./mg. 100 di peso umido di diaframma)	
		Senza insulina	Con insulina
1	Fosfati	0,26	0,48
		0,33	0,47
		0,10	0,15
2	B. carbonati	0,38	0,61
		0,51	0,87
		0,52	0,64

DESTINO DEL G-6-P

Si è trovato che la composizione del mezzo non influenza la conversione del G-6-P in F-6-P da parte del diaframma di ratto o da parte di un suo estratto; così, anche in un mezzo di bicarbonati, si è formata una miscela di equilibrio di questi due esteri in condizioni identiche a quelle precedentemente descritte in un mezzo di fosfati ⁽¹⁾.

Come si può notare dai risultati riportati nella Tabella VIII, si ha glicogenolisi quando il diaframma è incubato in presenza di G-6-P (2%) sia in un mezzo di fosfati che in un mezzo di bicarbonati.

TABELLA VIII

Variazioni nel contenuto di glicogeno del diaframma di ratto incubato con G-6-P (Il diaframma di ratto (circa mg. 100 di peso umido) è stato incubato per 90 minuti a 37° in cm³ 3 di mezzo. Le medie dei valori sono date $\pm$ S.E.M. Concentrazione del substrato: 2%. Una variazione negativa nella quantità di glicogeno indica una glicogenolisi).

Numero dei ratti	Contenuto iniziale di glicogeno del diaframma (mg./mg. 100 di peso umido)	Variazione nel contenuto di glicogeno (mg./mg. 100 di peso umido di diaframma)	
		Mezzo di bicarbonati	Mezzo di fosfati
6	$0,18 \pm 0,03$	$- 0,09 \pm 0,03$	$- 0,12 \pm 0,01$

DISCUSSIONE

Dai risultati riportati nella presente nota è evidente che l'optimum per la sintesi di glicogeno da G-1-P in un diaframma isolato di ratto, ha richiesto la presenza di ioni-fosfato nel mezzo di incubazione, mentre l'optimum per la sintesi di glicogeno da glucosio è stato ottenuto in assenza di ioni fosfato. Così gli ioni fosfato hanno un effetto opposto sulla sintesi di glicogeno rispettivamente da G-1-P e da glucosio nel diaframma di ratto. Una possibile spiegazione, ma non l'unica, per l'influenza degli ioni fosfato sul destino del G-1-P è che il fosfato inibisce la conversione del G-1-P in G-6-P dovuta alla fosfoglicomutasi e perciò dirige il corso del suo metabolismo verso la sintesi di glicogeno. Come è stato dimostrato il G-1-P aumenta la scomparsa dell'ossigeno da parte del diaframma di ratto alla stessa misura sia con, sia senza ioni fosfato nel mezzo e non si nota che la penetrazione di tale substrato nelle cellule sia impedita in assenza di ioni fosfato.

Il fatto che il G-1-P formi pochissimo glicogeno in assenza di ioni fosfato, mentre il glucosio è velocemente trasformato in glicogeno in

tali condizioni, è difficile da conciliare con la teoria generalmente accettata che ogni sintesi di glicogeno debba essere effettuata via G-1-P, ed i risultati riportati nel presente lavoro suggeriscono che debba esserci anche un'altra via per la sintesi di glicogeno da glucosio nel muscolo.

Un altro fatto interessante che appare da questo lavoro, è che sia la sintesi di glicogeno da glucosio come l'utilizzazione di glucosio da parte del diaframma di ratto siano significativamente aumentate in presenza di bicarbonati nel mezzo. Questo è di particolare interesse considerati i risultati di VENNESLAND e coll. ⁽¹⁴⁾, secondo i quali quando il glucosio veniva somministrato a ratti, facendo poi seguire iniezioni di una soluzione di $\text{NaH}^{11}\text{CO}_3$, si trovavano delle quantità apprezzabili di carbonio radioattivo sia nel glicogeno del muscolo come in quello del fegato. LOBER, HEMINGWAY e NIER ⁽¹⁵⁾ hanno anche descritto che il CO_2 è incorporato nel glicogeno sintetizzato da glucosio da parte di un cuore isolato.

Sono ora in corso studi sul metabolismo del glucosio da parte del diaframma di ratto in presenza di bicarbonato radioattivo, studi che saranno riferiti in una futura pubblicazione.

Roma — Istituto Superiore di Sanità - Laboratorio di chimica biologica.

BIBLIOGRAFIA

- (¹) A. BELOFF-CHAIN, E. B. CHAIN, D. BOVET, F. POCCHIARI, R. CATANZARO e L. LONGINOTTI - *Biochem. J.*, 54: 529 (1953).
- (²) W. C. STADIE e J. A. ZAPP - *J. Biol. Chem.*, 170: 55 (1947).
- (³) C. A. VILLEE, H. W. DEANE e A. B. HASTINGS - *J. Cell. Comp. Physiol.*, 34: 159 (1949).
- (⁴) K. L. ZIERLER, R. I. LEVY e R. ANDRES - *Johns Hopkins Hosp. Bull.*, 92: 7 (1952).
- (⁵) B. F. MILLER e D. D. VAN SLYKE - *J. Biol. Chem.*, 114: 583 (1936).
- (⁶) I. BERENBLUM e E. B. CHAIN - *Biochem. J.*, 32: 295 (1938).
- (⁷) C. A. GOOD, H. KRAMER e M. SOMOGYI - *J. Biol. Chem.*, 100: 485 (1933).
- (⁸) O. WALAAS e E. WALAAS - *J. Biol. Chem.*, 187: 769 (1950).
- (⁹) J. H. ROE - *J. Biol. Chem.*, 107: 15 (1934).
- (¹⁰) G. GOMORI - *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 62: 33 (1946).
- (¹¹) W. C. STADIE, N. HAUGAARD e J. B. MARSH - *J. Biol. Chem.*, 188: 167 (1951).
- (¹²) G. T. CORI, S. P. COLOWICK e C. F. CORI - *J. Biol. Chem.*, 124: 543 (1938).
- (¹³) G. T. CORI, S. P. COLOWICK e C. F. CORI - *J. Biol. Chem.*, 123: 275 (1938).
- (¹⁴) B. VENNESLAND, A. K. SOLOMON, J. M. BUCHANAN e A. B. HASTIN - *J. Biol. Chem.*, 142: 379 (1942).
- (¹⁵) V. LOBER, A. HEMINGWAY e A. O. NIER - *J. Biol. Chem.*, 151: 647 (1943).