Dott. UBERTO IBERTI - Dott. VINICIO FABBRINI

BROMO E RICAMBIO PURINICO.

I. - Influenza del bromo sulla uricolisi e sulla uricopoiesi « in vitro ».

Estratto dall'ARCHIVIO
PER LO STUDIO DELLA FISIOPATOLOGIA E CLINICA DEL RICAMBIO
Anno X - Fasc. I

DITTA TIPOGRAFIA CUGGIANI
ROMA - VIA DELLA PACE, 35
1942-XX

Clinica del Lavoro « Luigi Devoto » della R. Università di Milano
Direttore: † Prof. Luigi Preti

BROMO E RICAMBIO PURINICO

I. — Influenza del bromo sulla uricolisi e sulla uricopoiesi « in vitro »

Dott. Uberto Iberti, Assistente ordinario
Dott. Vinicio Fabbrini, Assistente volontario

In precedenti lavori intesi ad arrecare nuovi contributi alla questione del valore biologico del bromo, questione che negli ultimi anni è stato oggetto di numerosi studi, uno di noi, occupandosi della influenza esercitata da questo metalloide sullo sviluppo e sul ricambio proteico, giungeva alla conclusione dell'esistenza di una sindrome ipotireosica negli animali sottoposti a bromurazione prolungata. Ad analoga conclusione erano giunti altri AA. italiani tra cui Moruzzi e Botturini in diversi lavori di natura biochimica ed istologica. Nel sopracitato lavoro sull'azione del Br. sul ricambio proteico lo studio dell'azoto urinario e delle sue frazioni aveva permesso di stabilire la notevole riduzione di eliminazione dell'azoto totale, la cospicua diminuzione della frazione ureica e l'aumento di quella ammoniacale. Questi reperti per essere già stati da altri AA. (Pari, Lanzenberg, ecc.) descritti come inquadrabili nel complesso delle turbe del ricambio proprie degli aspetti clinici e sperimentali degli stati ipotireosici, avevano appunto contribuito a confermare quant'era stato concluso nel precedente lavoro sullo sviluppo di animali trattati per molti mesi con sali di bromo.

Per ciò che riguarda la frazione urica, lo studio dell'eliminazione per la via urinaria aveva portato a concludere per l'aumento di essa, cosa che, per essere stata riscontrata da qualche autore nelle sindromi tireoprive, come Pende stesso afferma, era sembrata in accordo colla conclusione

cui si era giunti sul meccanismo d'azione del bromo. Vero è però che l'N. allantoinico attraverso oscillazioni notevoli non presentava un comportamento univoco, mentre d'altro canto è noto per ricerche ormai numerose che la massima eliminazione di azoto purinico nel cane avviene sotto forma di allantoina.

Parecchi anni prima invece il JAPPELLI occupandosi dell'azione del Br-jone sul ricambio purinico aveva potuto dimostrare con dicerche *in vitro* su poltiglie di organi diversi lasciati in termostato per 12 ore a contatto con determinate quantità di Na Br la presenza di una minor quantità di acido urico ed una concomitante e proporzionale aumento di basi, puriniche. In una seconda serie di ricerche *in vivo* sperimentando su cani ad alimentazione apurinica aveva visto una eliminazione di corpi purinici costantemente orientata nel senso di una diminuzione della eliminazione dell'acido urico con collaterale aumento di escrezione delle basi allossuriche. Dal che l'A. arguiva essere logicamente pensabile che il Br introdotto eserciti un'azione ostacolante sulla xantinossidasi, sicchè il catabolismo nucleinico venga in maggiore o minore misura arrestato alla formazione delle basi allossuriche.

Questi dati sperimentali ci avevano in verità lasciati alquanto perplessi perchè il JAPPELLI parlava di acido urico come termine ultimo del ricambio purinico nei cani, mentre è noto ormai, come sopra si diceva, che termine ultimo e prevalente di detto ricambio è l'allantoina. D'altro lato quanto da uno di noi era stato viso a proposito della frazione urica, non era sufficiente a chiarire ogni dubbio, anzitutto perchè era il frutto d'osservazioni troppo scarse ed in secondo luogo perchè l'eliminazione allantoinica, cui per quanto si è detto sopra doveva concedersi la maggiore importanza, si presentava oltre modo irregolare. Entrava poi ancora in gioco il divario di dieta seguita, essendo i nostri animali tenuti ad una dieta mista quaternaria, mentre il JAPPELLI aveva sperimentato a dieta apurinica ed iperpurinica.

Pertanto in questa prima nota prenderemo in considerazione i fenomeni di uricolisi e di uricopoiesi *in vitro* cercando di vedere quali modificazioni è capace di indurre il Br in diverse concentrazioni sui sopraddetti processi fermentativi, riservando ad una seconda nota lo studio dell'eliminazione urica ed allantoinica in animali tenuti a dieta apurinica e sottoposti a bromurazione prolungata.

Tecnica della ricerca.

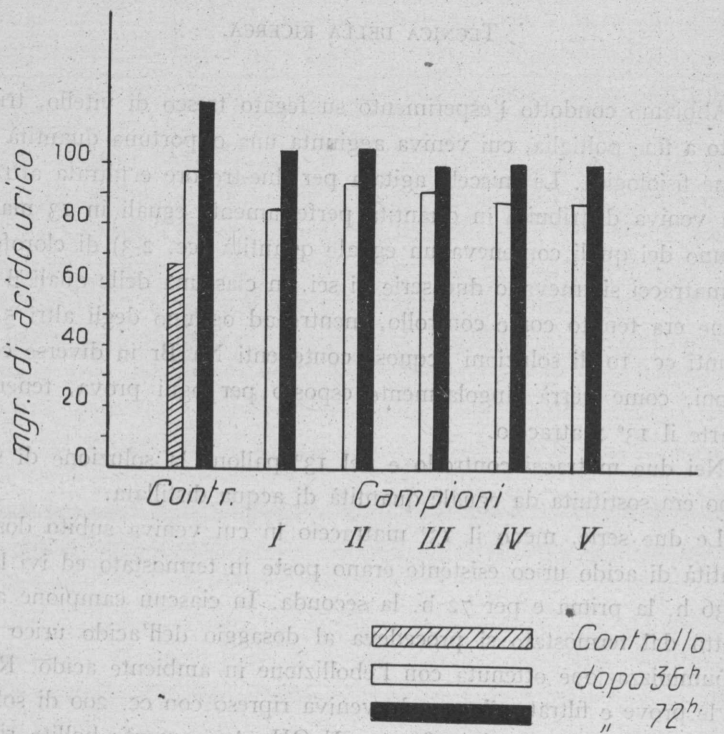
Abbiamo condotto l'esperimento su fegato fresco di vitello, tritato e ridotto a fine poltiglia, cui veniva aggiunta una opportuna quantità di soluzione fisiologica. La miscela agitata per due-tre ore e filtrata attraverso garza veniva distribuita in quantità perfettamente eguali in 13 matracci, ciascuno dei quali conteneva un eguale quantità (cc. 2-3) di cloroformio. Dai matracci si traevano due serie di sei, in ciascuna delle quali il primo pallone era tenuto come controllo, mentre ad ognuno degli altri 5 erano aggiunti cc. 10 di soluzioni acquose contenenti Na Br in diverse concentrazioni, come verrà singolarmente esposto per ogni prova, tenendo in disparte il 13° matraccio.

Nei due matracci controllo e nel 13° pallone la soluzione di sale di bromo era sostituita da eguale quantità di acqua distillata.

Le due serie, meno il 13° matraccio in cui veniva subito dosata la quantità di acido urico esistente erano poste in termostato ed ivi lasciate per 36 h. la prima e per 72 h. la seconda. In ciascun campione appena estratto dal termostato si procedeva al dosaggio dell'acido urico previa dealbuminizzazione ottenuta con l'ebollizione in ambiente acido. Raffreddate le prove e filtrate, il coagulo veniva ripreso con cc. 200 di soluzione fisiologica alcalinizzata al 10 % con NaOH, nuovamente bollito riacidificando con acido acetico diluito e filtrato dopo raffreddamento. Questa operazione era ripetuta 3 volte per ogni campione, di cui alla fine si riunivano tutti i filtrati sui quali si eseguiva la precipitazione dell'acido urico secondo il metodo di Ludwig-Salkowski.

L'acido urico veniva poi dosato, mediante il reattivo fosfowolframico, con un adattamento al metodo colorimetrico, analogamente a quanto era stato fatto da Brughs e Rothers per la determinazione dell'acido urico nella bile. La lettura era praticata con colorimetro di Pulfrich.

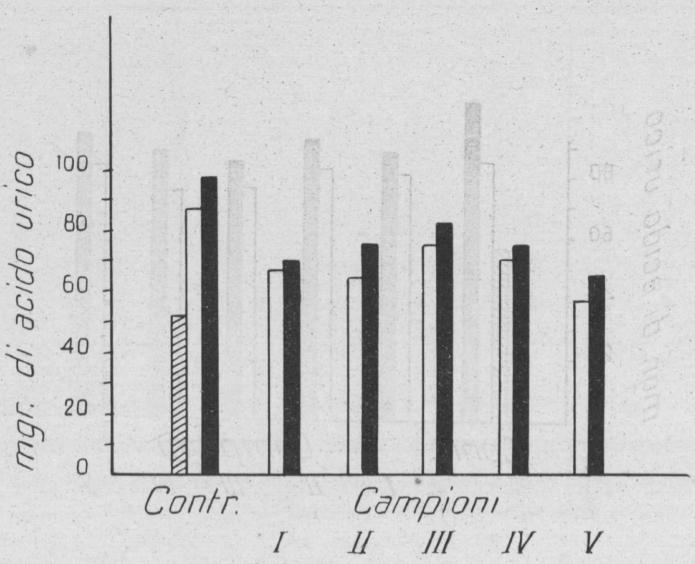
Per ciò che riguarda infine le esperienze sulla capacità uricolitica, la tecnica è sostanzialmente la stessa solo che alla poltiglia di fegato veniva aggiunta una certa quantità di acido urico sciolta in NaOH n/ 10. Così pure durante il soggiorno in termostato a 38° veniva fatta gorgogliare attraverso tutti i matracci una corrente d'aria precedentemente passata in una serie di recipienti contenenti soluzione concentrata di soda caustica. Tutto il rimanente procedimento nonchè il metodo di dosaggio rimanevano invece invariati.



URICOPOIESI (poltiglia di fegato).

ESPERIENZA I.

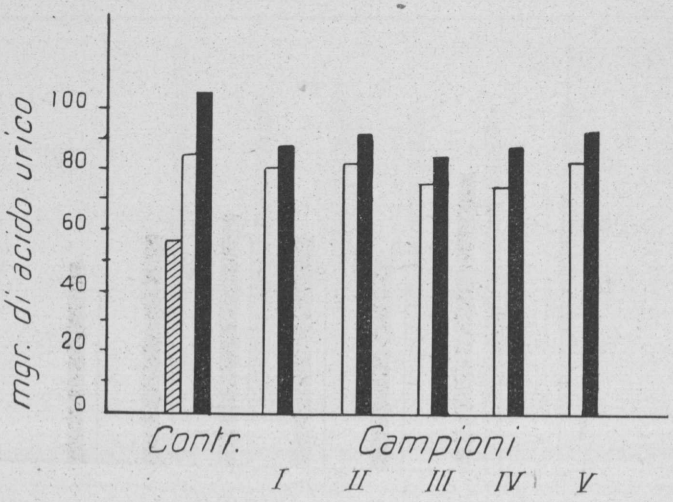
Dosaggi mgr. acido urico	Controllo	Campioni 1	2	3	4	5
Prima del termostato	66	+ 1 mgr. Na Br.	+ 5 mgr. Na Br.	+ 10 mgr. Na Br.	+ 25 mgr. Na Br.	+ 50 mgr. Na Br.
Dopo 36 ore di termostato	95	87	86	90	88	89
Dopo 72 ore di termostato	117	104	102	99	96	100



URICOPOIESI (poltiglia di fegato).

ESPERIENZA II.

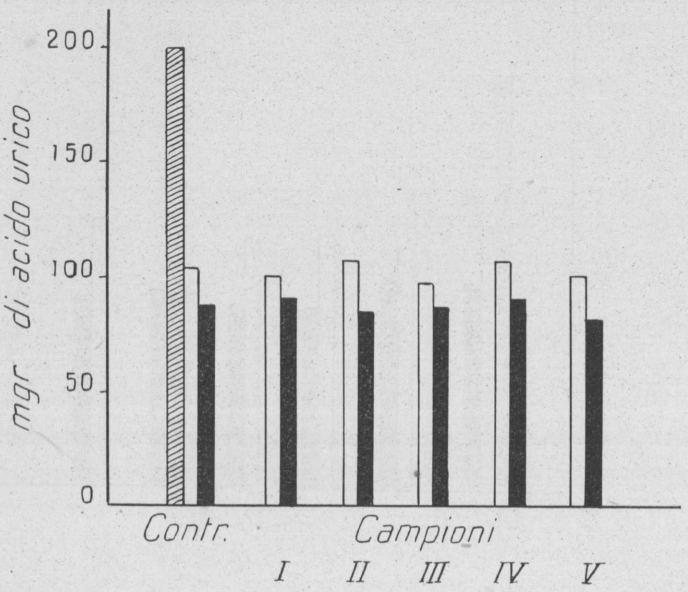
Dosaggi mgr. acido urico	Controllo	Campioni				
		1	2	3	4	5
Prima del trattamento	52	+ 2 mgr. Na Br.	+ 10 mgr. Na Br.	+ 20 mgr. Na Br.	+ 50 mgr. Na Br.	+ 100 mgr Na Br.
Dopo 36 ore di termostato	57	67	64	75	68	57
Dopo 72 ore di termostato	96	70	75	82	75	65



URICOPOIESI (poltiglia di fegato)

ESPERIENZA III.

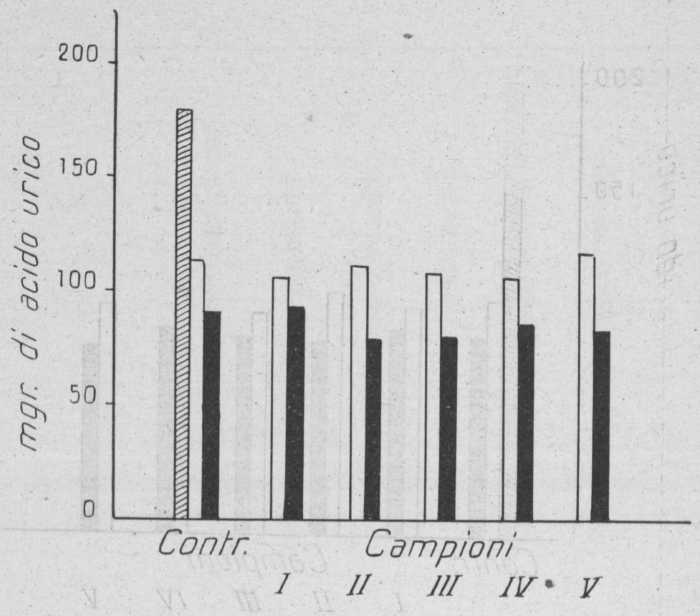
Dosaggi mgr. acido urico	Controllo	Campioni				
		1	2	3	4	5
Prima del trattamento	55	+ 5 mgr. Na Br.	+ 25 mgr. Na Br.	+ 50 mgr. Na Br.	+ 100 mgr. Na Br.	+ 500 mgr. Na Br.
Dopo 36 ore di termostato	87	68	65	64	61	65
Dopo 72 ore di termostato	106	75	78	69	73	79



URICOLISI (poltiglia di fegato) con aggiunta di circa gr. 2 di acido urico.

ESPERIENZA I.

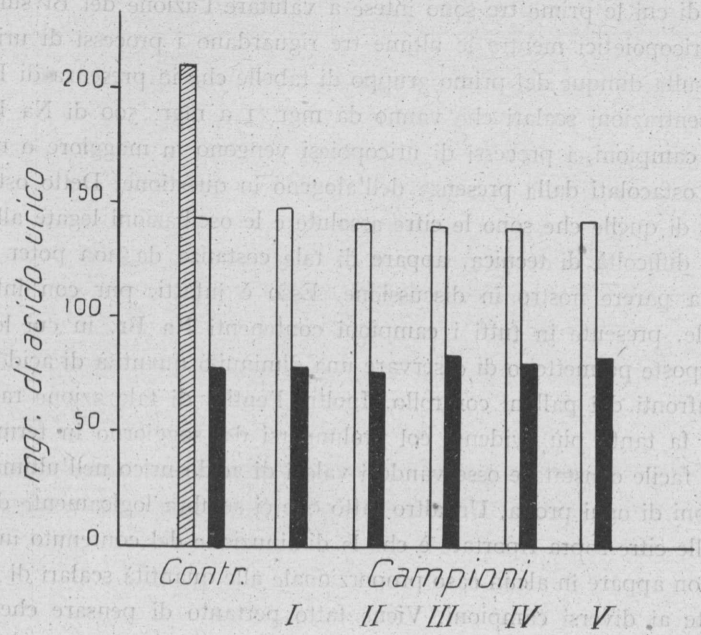
Dosaggi mgr. acido urico	Controllo	Campioni				
		1	2	3	4	5
Prima del trattamento	197	+ 1 mgr. Na Br.	+ 5 mgr. Na Br.	+ 10 mgr. Na Br.	+ 25 mgr. Na Br.	+ 50 mgr. Na Br.
Dopo 36 ore di termostato	103	100	104	97	105	100
Dopo 72 ore di termostato . . . . . ,	84	86	83	84	90	80



URICOLISI (poltiglia di fegato) con aggiunta di circa gr. 2 di acido urico.

ESPERIENZA II.

Dosaggi mgr. acido urico	Controllo	Campioni				
		1	2	3	4	5
Prima del trattamento	210	+ 2 mgr. Na Br.	+ 10 mgr. Na Br.	+ 20 mgr. Na Br.	+ 50 mgr. Na Br.	100 mgr. Na Br.
Dopo 36 ore di termostato	140	145	138	141	137	138
Dopo 72 ore di termostato	77	76	75	80	77	79



URICOLISI (poltiglia di fegato) con aggiunta di circa gr. 2 di acido urico.

ESPERIENZA III.

Dosaggi mgr. acido urico	Controllo	Campioni				
		1	2	3	4	5
Prima del trattamento	178	+ 5 mgr. Na Br.	+ 25 mgr. Na Br.	+ 50 mgr. Na Br.	+ 100 mgr. Na Br.	+ 500 mgr. Na Br.
Dopo 36 ore di termostato	112	107	111	108	106	114
Dopo 72 ore di termostato	84	90	78	79	86	82

I risultati ottenuti per ragioni di chiarezza sono stati riuniti in sei tabelle di cui le prime tre sono intese a valutare l'azione del Br sui fenomeni uricopoietici mentre le ultime tre riguardano i processi di uricolisi.

Risulta dunque dal primo gruppo di tabelle che in presenza di Bromo in concentrazioni scalari che vanno da mgr. 1 a mgr. 500 di Na Br nei diversi campioni, i processi di uricopoiesi vengono in maggiore o minore misura ostacolati dalla presenza dell'alogeno in questione. Detto ostacolo, al di là di quelle che sono le cifre assolute e le oscillazioni legate alle inevitabili difficoltà di tecnica, appare di tale costanza da non poter essere messo a parere nostro in discussione. Esso è infatti, pur con intensità variabile, presente in tutti i campioni contenenti Na Br, in cui le cifre sopraesposte permettono di osservare una diminuita quantità di acido urico nei confronti dei palloni controllo. Inoltre l'entità di tale azione rallentatrice si fa tanto più evidente col prolungarsi del soggiorno in termostato come è facile constatare osservando i valori di acido urico nell'ultima serie di palloni di ogni prova. Un altro fatto che ci sembra logicamente deducibile dalle cifre sopra riportate è che la diminuzione del contenuto in acido urico non appare in alcun caso proporzionale alle quantità scalari di Na Br aggiunte ai diversi campioni. Viene fatto pertanto di pensare che il Br nei riguardi dell'azione inibente sulla xantinossidase assuma una funzione catalizzatrice negativa, indipendentemente come tale dalla dose maggiore o minore di alogeno alla cui presenza il processo uricopoietico si svolge. Nel secondo gruppo di tavole sono raccolti invece i dati ottenuti dalle esperienze condotte per osservare l'eventuale influenza del Br sui processi uricolitici. E qui in verità i risultati non sono tali da poter giungere a concludere per l'esistenza di una azione definita dell'alogeno sui fermenti uricolitici. Le diverse quantità di acido urico constatato nelle prove contenenti Na Br rispetto a quelle di controllo ricadono nei limiti di errore della determinazione.

Crediamo pertanto che in base a tali risultati ci sia possibile affermare che i fenomeni di uricolisi non sono in modo decisivo influenzati dalla presenza del Bromuro di sodio anche per concentrazioni di una certa entità.

Volendo quindi concludere questa nostra ricerca, ci sembra di poter affermare in accordo a quanto aveva sostenuto il JAPPELLI che il Na Br esercita un'azione ostacolante coi caratteri di una azione catalizzatrice negativa sui processi di uricopoiesi *in vitro* mentre non pare abbia una in-

16223

fluenza definita sui fermenti uricolitici. Ci proponiamo pertanto come fu detto in precedenza di portare la nostra osservazione *in vivo* per vedere quale sia l'influenza che il Bromo esercita sul ricambio purinico di animali sottoposti a bromurazione prolungata.

(Pervenuto in Redazione il 1 Settembre 1941-XIX)

AUTORIASSUNTO. — Occupandosi dell'azione del bromo sul ricambio purinico gli AA. hanno preso in considerazione l'influenza esercitata dall'alogeno in questione sui processi di uricopoiesi e di uricolisi *in vitro*. Dalle ricerche condotte essi concludono per un'azione rallentatrice esercitata dal bromo sui processi uricopoietici mentre l'uricolisi non è apparsa influenzata in modo definito.

BIBLIOGRAFIA

BOTTURINI, « Giornale di Clinica Medica », 1939, fasc. 17.

— « Giornale di Clinica Medica », 1940, fasc. 12.

IBERTI, « Clinica Medica » Italiana », 1940.

— « Clinica Medica Italiana », 1940.

JAPPELLI, « Riforma Medica », XXVIII, 1912, pag. 1217.

MORUZZI, « Archivio Istituto Biochimico Italiano », 1936, pag. 229.

98001