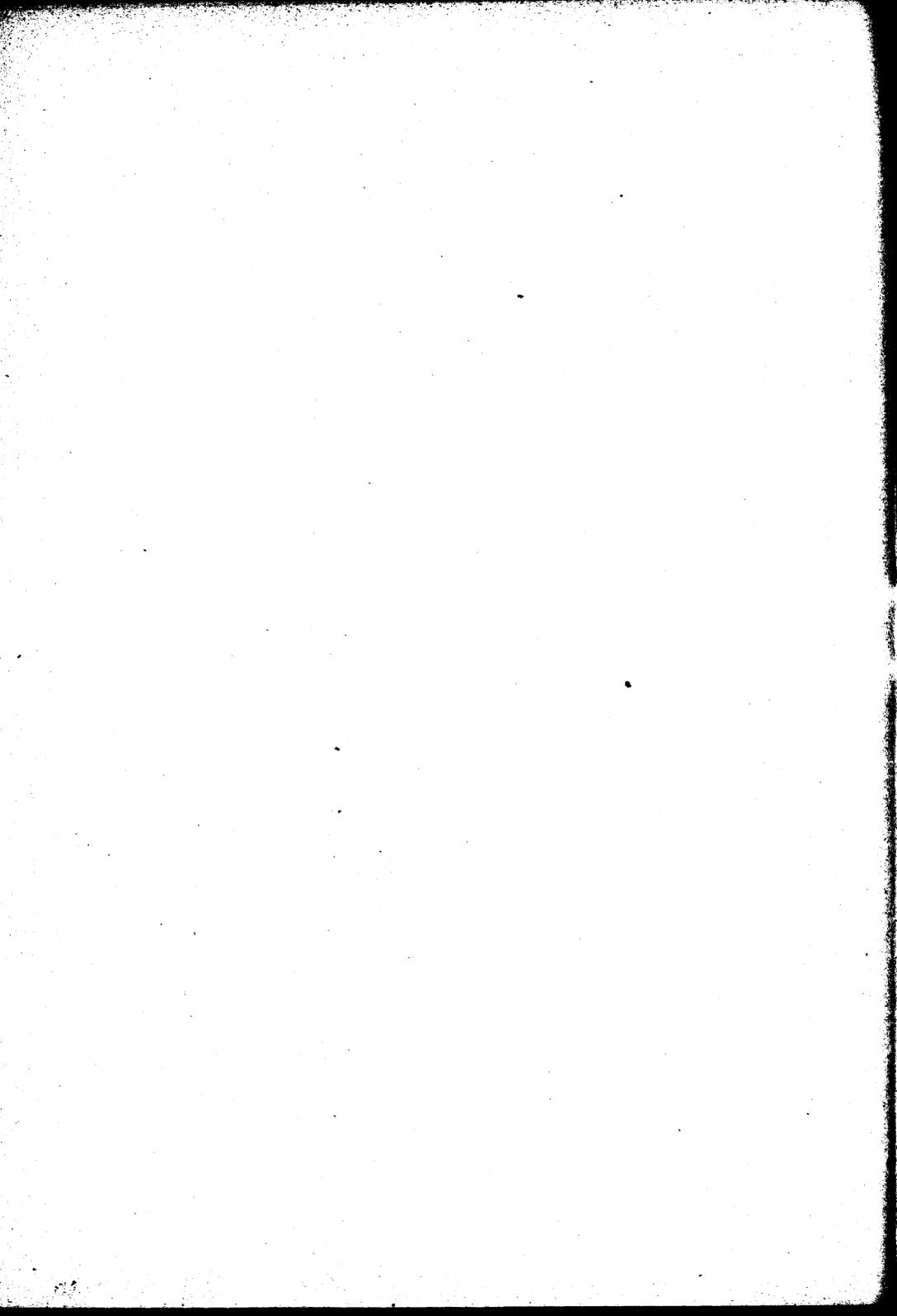


UBALDO PELLEGRINI E CLAUDIO PELLEGRINO  
LA GLICOSURIA E LA CHETONURIA  
DA FLORIZINA NEI RATTI SURRENO-  
PRIVI.

Estratto dall'ARCHIVIO  
PER LO STUDIO DELLA FISIOPATO-  
LOGIA E CLINICA DEL RICAMBIO  
Anno X - Fasc. 3



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



## LA GLICOSURIA E LA CHETONURIA DA FLORIZINÀ NEI RATTI SURRENOPRIVI

UBALDO PELLEGRINI e CLAUDIO PELLEGRINO

Numerose ricerche hanno dimostrato che la parte corticale della ghiandola surrenale esercita un'influenza sopra il metabolismo degli idrati di carbonio e sopra quello dei corpi chetonici.

Per quanto riguarda gli idrati di carbonio è stato dimostrato negli animali privati delle surrenali una diminuzione del glucosio ematico (BIERRY e L. MALLOIZEL [1]; O. PORGES [17]; C. F. CORI e G. T. CORI [5]; L. C. WYMAN e B. S. WALKER [28]; S. THADDEA [25]), del glicogene epatico (O. PORGES [17]; O. SCHWARZ [21]; C. F. CORI e G. T. CORI [5]; S. W. BRITTON e H. SILVETTE [2]; S. THADDEA [25]; C. N. H. LONG, B. KATZIN e E. G. FRY [13]), del glicogene muscolare S. W. BRITTON e H. SILVETTE [2]; L. F. LELOIR [11]; C. N. H. LONG, B. KATZIN e E. G. FRY [13]; S. THADDEA [25]).

Il glucosio introdotto intravena (S. THADDEA [25] ecc.), l'ac. lattico introdotto intravena o per via gastrica (S. THADDEA [25]; M. V. BUELL, ecc. [3]) scompaiono più lentamente dalla circolazione sanguigna e parallelamente si verifica un minore aumento di glicogene del fegato e dei muscoli.

È stato osservato poi che l'iniezione di estratti o di principi attivi dalla corteccia surrenale in animali surrenectomizzati impedisce la comparsa delle suddette manifestazioni (S. W. BRITTON e H. SILVETTE [2]; F. LELOIR [11]; S. THADDEA [25]; R. L. ZWEMER e R. C. SULLIVAN [29]; ecc. ecc.).

Per quanto riguarda il metabolismo dei corpi chetonici W. W. SWINGLE e coll. [24], S. THADDEA e W. KUHN [26]), E. M. MAC KAY e A. N. WICK [15] notarono un iperchetonemia conseguente all'epinefrectomia. E. PUCCINELLI [18] trovò un aumento della produzione di c. chetonici da parte del fegato isolato di ratto surrenoprivo. E. M. MAC KAY e R. H. BARNES [14] videro che la chetonuria da digiuno, da gravidanza,

da iniezione di estratto chetogeno anteipofisario, da iniezione di ac. acetico diminuisce dopo la surrenectomia.

In alcuni lavori è stata studiata l'influenza del desossicorticosterone sopra la produzione di c. chetonici. È stato osservato che la sua iniezione nel ratto inibisce la formazione di ac. acetico da parte del fegato isolato in presenza di ac. butirrico (E. PUCCINELLI [19]) e provoca una diminuzione della chetonemia e della chetonuria delle ratte poste a digiuno (M. SIMONCINI [22]).

Questi ultimi risultati si connettono con quelli di THADDEA e KUHN che con l'iniezione di estratti corticosurrenali determinarono un abbassamento dell'iperchetonemia in ratti surrenoprivi e con quelli di E. WINKLER e F. HEBELER [27] i quali trovarono per effetto del corticosterone una diminuzione della chetonemia da fatica in soggetti non allenati.

In continuazione di alcune di queste indagini [19-22] sono state eseguite le presenti ricerche nelle quali abbiamo studiato l'influenza dell'acetato di desossicorticosterone sopra la chetonemia, la chetonuria e la glicosuria nei ratti trattati con florizina, normali e privati delle gh. surrenali.

A proposito dell'influenza della corteccia surrenale sopra il diabete da florizina, è stato osservato che la surrenectomia abbassa la glicosuria e la chetonuria (G. EVANS [7-8]; COGO e MIGLIORINI [4]). L'iniezione di estratto corticosurrenale in animali operati ed in diabete floriznico, ristabilisce la capacità di formare c. chetonici (G. EVANS [7-8]; G. ERHARDT, HGH. RUSCHY e R. RIGLER [9]) e fa ricomparire la glicosuria (G. EVANS, COGO e MIGLIORINI, C. LOMBROSO [12]).

Recentemente F. HOFF [10] ha riferito alcune osservazioni che sembrano in contrasto con quelle ora citate, poichè ha osservato che l'iniezione di corticosterone provoca una diminuzione della glicosuria da florizina nel cane.

Anche in considerazione di questi dati ancora contrastanti sono state intraprese le presenti ricerche, come si è detto, intese a studiare il comportamento della glicosuria della chetonuria e chetonemia nei ratti surrenectomizzati trattati con desossicorticosterone.

#### ESPERIMENTI.

Come animale da esperimento è stato adoperato il ratto albino di peso fra 130 e 200 gr. tenuto in precedenza a dieta prevalentemente idrocarbonata. La florizina scissa in olio è stata iniettata sottocute in quantità corrispondente a 10-20 mgr. per 100 gr. di peso. Come principio attivo della corteccia surrenale è stato usato l'acetato di desossicorticosterone sintetico fornitoci dalla S. A. Prodotti Schering e dalla Compagnia Farmaceutica, che sentitamente ringraziamo.

Prima del trattamento ogni animale veniva tenuto digiuno per alcune ore (12-24) poi veniva posto in un'apposita gabbietta atta a raccogliere l'urina. Il ratto restava in esperimento per tre giorni e quotidianamente riceveva la florizina sottocute. Ogni giorno venivano determinate la quantità dei c. chetonici e del glucosio eliminati per le urine.

Per la determinazione dei c. chetonici l'urina diluita veniva trattata con ossido di calcio e solfato di rame, poi con reattivo di DENIGÈS e con bicromato potassico, precipitando tutti i c. chetonici secondo il metodo di D. D. van Slyke esposto da J. P. PETERS e D. D. VAN SLYKE [16]. Il precipitato di acetone-mercurio, lavato con cura, veniva poi disciolto con HCl a caldo ed il mercurio titolato con KJ. Per la valutazione quantitativa del glucosio urinario si è adoprato nell'urina convenientemente diluita il metodo di Fehling-Parry.

Per la dimostrazione dei c. chetonici del sangue si procedeva nel modo seguente: il sangue veniva prelevato mediante una siringa, che conteneva qualche cristallo di ossalato di potassio e il cui ago si introduceva nell'a. carotide dell'animale non narcotizzato. In un ratto adulto in buone condizioni si ottengono circa cc. 3-3,5 di sangue. Il plasma deproteinizzato con solfato di mercurio, secondo D. D. v. SLYKE e J. W. FRITZ veniva diluito con reattivo di Denigès e con bicromato di potassio seguendo la riduzione a micrometodo di N. L. Edson esposta da A. Rossi [20]. I corpi chetonici espressi in mgr. di acetone sono riferiti nelle tabelle al 1 cc. di plasma.

Gli esperimenti sono stati disposti nel modo seguente:

1) per lo studio della chetonuria e glicosuria, 16 ratti di cui 7 normali e 9 epinefrectomizzati furono divisi in 5 gruppi. Il primo ed il secondo di questi costituiti dai normali furono tenuti a digiuno e trattati il primo con florizina, il secondo con florizina e desossicorticosterone.

I nove ratti surrenectomizzati furono divisi in tre gruppi. Tutti furono tenuti a digiuno. Un gruppo non ricevette alcun trattamento, uno fu trattato con florizina, il terzo con florizina e acetato di desossicorticosterone. L'iniezione del principio corticosurrenale tanto negli animali normali che operati veniva praticata contemporaneamente a quella di florizina. Il trattamento veniva ripetuto ogni 24 ore.

2) il comportamento dei c. chetonici nel sangue è stato studiato su 14 ratti di cui sei normali e otto operati. A tre normali, dopo 24 ore di digiuno venne iniettata sottocute florizina in dose di 20 mgr. per 100 gr. di peso. Dopo 12 ore fu prelevato il sangue. Ad altri tre ratti normali fu praticata (dopo 24 ore di digiuno) un'iniezione di florizina; dopo 10 ore seguì un'iniezione di mgr. 1 di desossicorticosterone. Il sangue fu prelevato 2 ore dopo questo ultimo trattamento.

Gli otto ratti operati dopo 24 ore di digiuno furono iniettati sottocute con florizina. Insieme a questa tre ratti ricevettero sottocute mgr. 1,5 di acetato di desossicorticosterone. Dopo 10 ore a tutti i ratti fu prelevato il sangue per la determinazione dei c. chetonici.

I risultati sono esposti nelle tabelle e nei diagrammi annessi al lavoro.

RISULTATI.

1) *Azione della florizina nei ratti normali ed operati.*

La eliminazione di glucosio e di c. chetonici nei ratti normali digiuni e trattati con florizina in dose di 10 mgr. per 100 gr. di peso, ha presentato valori discretamente alti. In tre giorni sono stati eliminati in tre ratti in media mgr. 61,94 di acetone e gr. 0,59 di glucosio per ogni ratto e per ogni giorno.

Nei ratti privati, delle gh. surrenali l'iniezione di florizina ha determinato un'eliminazione di glucosio e di c. chetonici inferiore a quella presentata dai precedenti. Infatti per i c. chetonici in tre ratti si è avuto una eliminazione media giornaliera di mgr. 0,449 per tre giorni e di gr. 0,194 di glucosio. Si deve rilevare da un attento esame delle tabelle che l'eliminazione di glucosio nel primo giorno non è molto diversa da quella dei normali, e che le differenze compaiono nei giorni successivi.

TABELLA N. 1 — *Glicosuria e chetonuria in ratti normali e surrenectomizzati, trattati con florizina e con acetato di desossicorticosterone*

Esperim. N.	Peso gr.	Flo- rizina iniettata mg. pro die	Acetato di desossi- cortico- sterone mg. pro die	Glucosio in grammi				Corpi chetonici in mg. di acetone			
				1° giorno	2° giorno	3° giorno	Totale	1° giorno	2° giorno	3° giorno	Totale

Ratti normali iniettati con florizina.

1	130	13	--	0,49	0,54	0,50	1,53	47,25	42,0	44,2	133,45
2	140	14	—	0,60	0,72	0,78	2,10	45,92	76,7	81,42	204,04
3	130	13	—	0,36	0,60	0,71	1,67	21,20	99,56	99,36	220,12
<i>Media</i>				0,48	0,62	0,71	0,59	38,12	72,75	74,87	61,94

Ratti normali iniettati con florizina e acetato di desossicorticosterone.

4	120	12	1	0,50	0,64	†	1,14	77,0	114,4	†	191,40
5	140	14	1	0,64	0,78	0,88	2,30	44,68	150,0	170,88	365,56
6	150	15	2	0,97	1,20	0,82	2,99	98,17	120,0	113,21	331,38
7	130	13	2	0,90	1,14	0,86	2,90	92,8	121,0	114,46	328,26
<i>Media</i>				0,76	0,94	0,85	0,85	78,16	126,4	132,64	110,60

Esperim. N.	Peso gr.	Florizina iniettata mg. pro die	Acetato di desossi- cortico- sterone mc. pro die	Glucosio in grammi				Corpi chetonici in mg. di acetone			
				1° giorno	2° giorno	3° giorno	Totale	1° giorno	2° giorno	3° giorno	Totale

Ratti surrenectomizzati.

8	145	—	—	0,0	0,0	0,0	0,0	0,008	0,578	0,178	0,764
9	135	—	—	0,0	0,0	0,0	0,0	0,599	0,193	0,365	1,157
10	120	—	—	0,0	0,0	0,0	0,0	0,032	0,318	0,300	0,650
			<i>Media</i>	0,0	0,0	0,0	0,0	0,213	0,363	0,281	0,286

Ratti surrenectomizzati e iniettati con florizina.

11	135	13	—	0,74	0,09	0,02	0,85	0,173	0,252	0,065	0,490
12	120	12	—	0,12	0,05	0,05	0,22	2,218	0,246	0,180	2,644
13	140	14	—	0,575	0,10	0,01	0,685	0,286	0,487	0,139	0,912
			<i>Media</i>	0,47	0,08	0,026	0,194	0,892	0,382	0,128	0,449

Ratti surrenectomizzati, iniettati con florizina e acetato di desossicorticosterone.

14	130	13	1	0,56	0,36	0,48	1,40	14,81	15,75	12,20	42,77
15	140	14	2	0,82	0,75	0,18	1,75	21,99	64,14	1,68	87,81
16	130	13	2	0,54	0,39	0,71	1,64	7,31	90,15	10,27	107,73
			<i>Media</i>	0,64	0,50	0,46	0,53	14,70	56,68	8,05	26,47

2) Azione dell'acetato di desossicorticosterone sulla glicosuria e chetonuria da florizina.

Nei ratti privati delle gh. surrenali, l'iniezione di florizina e di ac. di desossicorticosterone ha prodotto un'eliminazione di c. chetonici in tre giorni corrispondente ad una media di mgr. 26,47 *pro die* e per ogni animale. Questi valori sono come è evidente, notevolmente superiori a quelli trovati nei ratti operati e trattati con florizina la cui media era mgr. 0,449 ogni ratto.

In confronto ai valori trovati negli animali normali trattati con florizina desossicorticosterone, quelli ora in esame si sono dimostrati alquanto inferiori (media

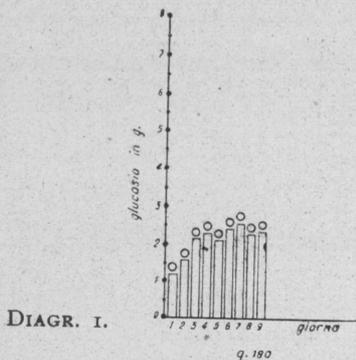
*pro die e pro ratto mgr. 110*) mentre differenze meno notevoli esistono verso i valori ottenuti in ratti normali trattati con florizina (*mgr. 61,94 pro die e pro ratto*).

Per quanto riguarda la glicosuria nei ratti operati l'introduzione di florizina e desossicorticosterone ha prodotto un'eliminazione media di glucosio di gr. 0,53 ogni giorno.

Nei ratti normali iniettati con florizina, il desossicorticosterone ha prodotto una eliminazione di glucosio di gr. 0,85 *pro die e pro ratto*. Questa eliminazione è stata un po' maggiore di quella trovata nei ratti<sup>™</sup> trattati solo con florizina (gr. 0,59). Le differenze valutate nei risultati medi come nei singoli non sono così significative per affermare definitivamente un'influenza del desossicorticosterone sul diabete floriznico dei ratti normali.

Per tale ragione abbiamo studiato l'influenza del desossicorticosterone disponendo gli esperimenti in modo diverso. I ratti invece di essere tenuti a digiuno, sono stati alimentati con dieta idrocarbonata. Ogni giorno si iniettava ad essi mgr. 10 di florizina ogni 100 gr. di peso. Il trattamento è durato nove giorni. Quattro ratti sono stati trattati con sola florizina (vedi diagr. 1-4). Negli altri quattro (diagr. 5-8) nella 4<sup>a</sup>, 5<sup>a</sup>, 6<sup>a</sup> giornata di esperimento oltre la florizina è stato

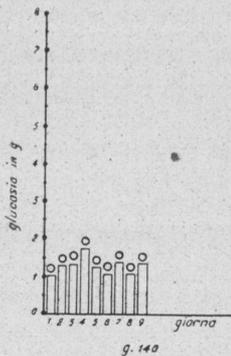
*Eliminazione di glucosio in ratti alimentati sottoposti a trattamento con florizina e acetato di desossicorticosterone.*



DIAGR. 1.

g. 180

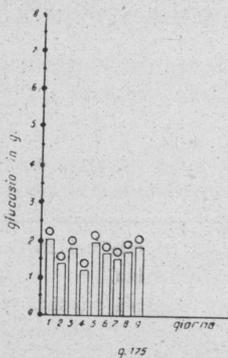
o florizina



DIAGR. 2.

g. 140

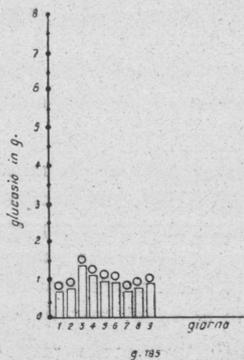
o florizina



DIAGR. 3.

g. 175

o florizina

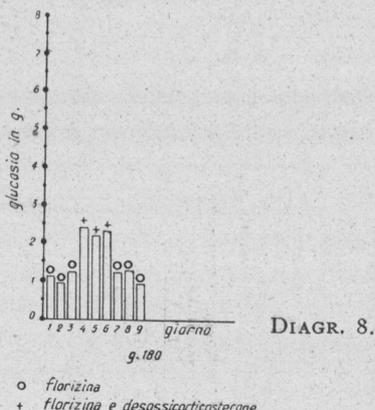
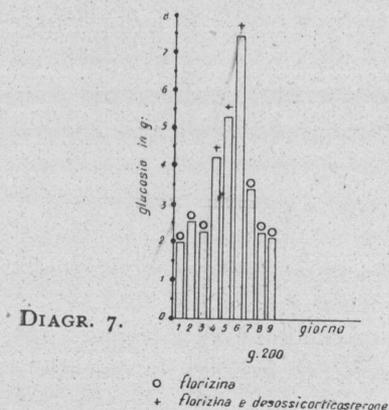
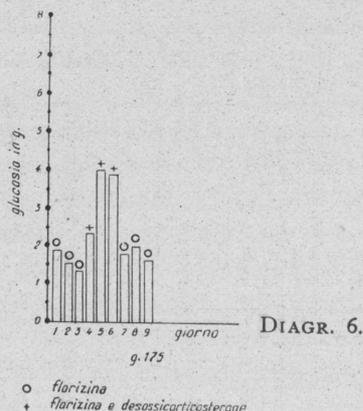
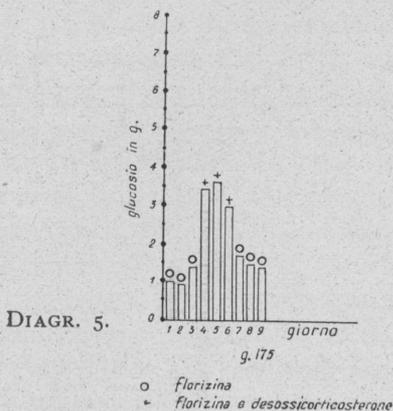


DIAGR. 4.

g. 185

o florizina

*Eliminazione di glucosio in ratti alimentati sottoposti a trattamento con florizina e acetato di desossicortisterone.*



iniettato il desossicortisterone in dose di mgr. 2,5 per giorno. Da queste ricerche risulta, evidente che il trattamento con desossicortisterone provoca un'elevazione della glicosuria da florizina a valori doppi e talora tripli del normale. Si si sospende il trattamento col principio corticosurrenale la glicosuria ritorna ai valori precedenti al trattamento.

3) *Azione del desossicortisterone sopra la chetonemia in ratti operati e iniettati con florizina.*

Il contenuto in c. chetonici si è dimostrato alto nei ratti normali iniettati con florizina, avendo raggiunto in ogni animale la media di mgr. 0,365 per 1 cc. di plasma. Nei ratti operati e trattati con florizina è stato invece molto basso: mgr. 0,044 per 1 cc. di plasma.

L'iniezione di acetato di desossicortisterone mentre non ha determinato variazioni evidenti nella chetonemia dei ratti normali e trattati con florizina (media



### CONSIDERAZIONI.

Dalle nostre esperienze appare che l'estirpazione dei surreni inibisce la comparsa della chetonuria, dell'iperchetonemia e della glicosuria conseguente al trattamento florizinico. In questo particolare le presenti ricerche confermano le osservazioni di G. EVANS e di COGO e MIGLIORINI.

La introduzione di acetato di desossicorticosterone ha avuto conseguenze analoghe nei ratti normali od epinefrectomizzati trattati con florizina. Nei ratti operati, il contemporaneo trattamento con florizina e desossicorticosterone ha provocato la comparsa dell'iperchetonemia, della chetonuria e della glicosuria che mancavano od erano attenuate nei corrispondenti animali surrenoprivi. Sotto questo aspetto il desossicorticosterone ha ripristinato una condizione identica a quella che esiste nell'animale con le surrenali per lo meno dal punto di vista qualitativo.

Analoghe conseguenze si sono verificate nel diabete florizinico dei ratti normali. Nei quali l'iniezione di desossicorticosterone ha prodotto un sensibile aumento della chetonuria rispetto ai ratti trattati con sola florizina. Riguardo alla glicosuria dati evidenti sono risultati negli esperimenti eseguiti sui ratti tenuti a dieta idrocarbonata. In questi infatti il trattamento con desossicorticosterone ha provocato un aumento della glicosuria. Questo risultato appare in contrasto con le esperienze di F. HOFF, il quale ha ottenuto nel cane con iniezioni di desossicorticosterone una diminuzione della glicosuria da florizina.

Si deve rilevare poi che il trattamento con desossicorticosterone, che non ha modificato sensibilmente la chetonemia dei ratti normali, digiuni e iniettati con florizina, ha prodotto invece un forte aumento di c. chetonici nel sangue dei ratti operati e trattati con florizina. In questi si è avuto un parallelo comportamento della chetonuria e della chetonemia.

Questo fatto chiarisce la limitata importanza da attribuire alla eliminazione renale nel determinare le alterazioni riscontrate: il rene elimina regolarmente quantità di c. chetonici presso a poco proporzionali a quelle presenti nel sangue e non dimostra alcuna alterazione nella sua funzione. Però a questo proposito non si deve dimenticare che il dispositivo sperimentale non è forse il più idoneo a risolvere definitivamente un tale problema.

Dobbiamo infine rilevare che il desossicorticosterone aumenta la chetonemia e la chetonuria da florizina nei ratti normali ed operati mentre provoca la diminuzione della chetonuria e della chetonemia nei ratti normali digiuni (M. SIMONCINI [22]) ed in quelli surrenectomizzati (S. THAD-

DEA e W. KUHN [26]). Vi è quindi un contrasto tra l'azione esplicata nei ratti intossicati con florizina, specie surrenectomizzati, e quella nei ratti digiuni o nei ratti operati.

Il contrasto fra le due azioni dipende forse dalle diverse condizioni sperimentali nelle quali è stata studiata l'azione del desossicorticosterone. È verosimile pensare che l'influenza sopra il metabolismo dei c. chetonici si esplichino non immediatamente ma con un'azione indiretta attraverso il metabolismo di altre sostanze come gli idrati di carbonio od i grassi.

#### CONCLUSIONI.

1) Nei ratti surrenectomizzati e tenuti a digiuno l'iniezione di florizina, provoca una eliminazione di glucosio e di c. chetonici nelle urine, notevolmente inferiore a quella che si verifica nei ratti non operati.

2) Il trattamento con acetato di desossicorticosterone (sintetico) nei ratti operati e iniettati con florizina, determina un aumento della glicosuria e chetonuria che però non raggiungono i valori che si hanno nei ratti non operati.

3) Nei ratti non operati, iniettati con florizina, il trattamento con acetato di desossicorticosterone produce un aumento della eliminazione del glucosio per le urine.

*(Pervenuto in Redazione  
l'8 novembre 1941-XX)*

RIASSUNTO. — Viene descritto il comportamento della glicosuria e della chetonuria da florizina nei ratti digiuni, operati di surrenectomia e iniettati con acetato di desossicorticosterone. Nei ratti operati la glicosuria e la chetonuria sono minori, e il desossicorticosterone iniettato le ripristina solo in parte.

BIBLIOGRAFIA

- [1] BIERRY H. e MALLOIZEL L., « Compt. rend. Soc. Biol. », 65, 232, 1908.
- [2] BRITTON S. W. e SILVETTE H., « Am. J. Physiol. », 111, 225, 1934.
- [3] BUELL M. V., ANDRUS C. F. e STRAUSS S. W., « Am. J. Physiol. », 117, 448, 1936.
- [4] COGO e MIGLIORINI R., « Acc. med. Genova », II, 1936.
- [5] CORI C. F. e CORI G. T., « J. Biol. Chem. », 74, 473, 1927.
- [6] EDSON N. L., « Biochem. J. », 29, 2082, 1935.
- [7] EVANS G., « Am. J. Physiol. », 114, 297, 1936.
- [8] EVANS G., « Proc. Soc. Exp. Biol. Med. », 33, 1246, 1935.
- [9] EHRHARDT G., RUSCHY HCH. e RIGLER R., « Münch. med. Woch. », I, 444, 1939.
- [10] HOFF F., « Klin. Wschr. », 1535, 1938.
- [11] LELOIR C. F., citato da LONG C. N. H.
- [12] LOMBROSO C., « Riv. Patol. Sper. », 6, 239, 1937.
- [13] LONG C. N. H., KATZIN B. e FRY E. G., « Endocrinol. », 26, 309, 1940.
- [14] MC KAY E. M. e BARNES R. H., « Am. J. Phys. », 122, 101, 1938.
- [15] MC. KAY E. M. e WICK A. N., « Am. J. Phys. », 126, 753, 1939.
- [16] PETERS G. A. e SLYKE D. D., *Quantitative Clinical Chemistry*, vol. II, Bal-  
liere, Tindall e Cox, 1932.
- [17] PORGES O., « Zeit. Klin. Med. », 69, 341, 1909.
- [18] PUCCINELLI E., « Ormoni », 3, 143, 1941.
- [19] PUCCINELLI E. e MELOSI E., « Ormoni », 3, I, 1941.
- [20] ROSSI A., « Arch. Sci. Biol. », 23, 549, 1937.
- [21] SCHWARZ O., « Pflügers Arch. », 134, 259, 1910.
- [22] SIMONCINI M., in corso di stampa, in « Arch. Sci. Biol. ».
- [23] v. SLYKE D. D. e FICTZ J. W., « J. Biol. Chem. », 13, 15, 1912.
- [24] SWINGLE W. W., PFIFFNER S. S., VARSE H. N. e PARKINS W., « Am. J. Phys. », 108, 420, 1934.
- [25] THADDEA S., *Die Nebennierenrinde*, Thieme, Lipsia, 1937.
- [26] THADDEA S. e KUHN W., « Klin. Woch. », 16, 1499, 1937.
- [27] WINKLER E. e HEBELER F., « Klin. Woch. », 5, 69, 1938.
- [28] WYMAN L. C. e WALKER B. S., « Am. J. Physiol. », 89, 215, 1929.
- [29] ZWERMER R. L. e SULLIVAN R. C., « Endocrinol. », 18, 97, 1934.

97993

347033



