Archivio Italiano di Fisiologia (in sta, 98)

CONGRESSO SOCIETÀ ITALIANA DI FISIOLOGIA

Firenze, 28-29 maggio 1976

L. Di Bella, G. Scalera, M.T. Rossi e L. Gualano
(Istituto di Fisiologia Umana dell'Università di Modena)

Variazioni del 2,3-DPG eritrocitario dopo trattamento acuto con 5-metossi-n-acetil-triptamina (melatonina).

Dopo la scoperta del 2,3-DPG e delle sue ripercussioni sulla pO_2 necessaria per avere il 50% di ossigenazione dell'Hb (P_{50}) [1, 2], l'interesse si è spostato anche verso lo studio dei rapporti tra modificazioni della struttura dell'Hb da una parte e contenuto in 2,3-DPG degli eritrociti dall'altra [3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11].

Avendo noi rilevato da tempo che la somministrazione, a pazienti talassemici, di 5-metossi-N-acetil-triptamina (MLT) induce un miglioramento sensibile, e a volte drammatico, delle condizioni di ossigenazione e sanguificazione, abbiamo ritenuto utile indagare se l'effetto rilevato non fosse eventualmente riportabile ad aumento del tasso eritrocitario del 2,3-DPG.

La determinazione del 2,3-DPG è stata fatta col metodo di LOWRY e Coll. [12], modificato, adoperando lo spettrofotometro Beckman DK-2A. I ratti erano di razza Wistar, maschi, del peso medio di gr. 311,9±40,8, in narcosi da Na-pentobarbital (mg 60/kg i.p.); essi furono iniettati nella giugulare esterna con soluzione acquosa di MLT nella misura di 1 mg/kg. La soluzione era stata resa isotonica con aggiunta di urea; come ratti confronto furono adoperati quelli iniettati con soluzione di sola urea ugualmente concentrata e nella stessa quantità. Il sangue veniva prelevato dalla carotide con siringa siliconata ed eparinizzata, prima dell'iniezione di MLT, e dopo 60 e 150 minuti. Nei singoli prelievi si determinavano: globuli rossi; formula leucocitaria; Hb; ematocrito (Hcr); 2,3-DPG. Dopo l'ultimo prelievo gli animali venivano dissanguati; veniva prelevato il midollo dal femore e dalla tibia, che veniva strisciato, colorato e letto per ottenere il mielogramma. I risultati sono riportati nella Tabella 1.

Come era prevedibile, sia il tasso di Hb, che il numero di globuli rossi in conseguenza del dissanguamento parziale, sono calati sia negli animali non iniettati che in quelli trattati con MLT. È calato anche l'Hcr, mentre l'MCV ha mostrato tendenza a salire nei due gruppi di ratti. Il 2,3-DPG, riferito allo stesso volume di sangue, è calato nei due gruppi di ratti, e, in quelli trattati con MLT, significativamente più, ($0.025<P<0.0175$) dopo 150 min, che nei ratti non trattati. Il contenuto medio di 2,3-DPG per globulo rosso è calato, ma non significativamente, nei ratti trattati, mentre è rimasto costante in quelli non trattati, la variazione tra i ratti trattati e quelli non trattati essendo però pienamente significativa dopo 150 min ($0.01<P<0.005$).

Tabella I. - 2,3-DPG (µmoli).

Tempo	Hb (g/100 ml)	Hct.	G.R. (x 10^3)	MCV (μ^3)	/ml sangue intero	/G.R. (x 10^{10})	/MCV (x 10^{12})	/Hb (g)	Osservazioni
Prima	15.079 ± 0.876	44.28 ± 2.45	8396 ± 1426	54.68 ± 1.18	3.991 ± 0.477	48.875 ± 7.19	75.471 ± 17.952	26.366 ± 1.914	Ratti iniettati con MLT
Dopo 60 min	14.206 ± 1.65	43.57 ± 5.16	8094 ± 1776	56.48 ± 0.98	3.830 ± 0.700	47.637 ± 8.457	71.373 ± 18.105	26.826 ± 2.942	
Dopo 150 min	13.110 ± 2.024	37.67 ± 4.89	7249 ± 1183	53.02 ± 0.24	3.183 ± 0.809	44.322 ± 7.708	60.237 ± 15.996	24.681 ± 4.301	
Prima	13.068 ± 1.079	39.775 ± 3.679	6907 ± 1198	58.36 ± 0.63	3.805 ± 0.163	56.884 ± 13.960	65.528 ± 4.170	29.290 ± 3.154	Ratti non iniettati con MLT
Dopo 60 min	12.363 ± 1.054	38.333 ± 2.543	6477 ± 1358	60.87 ± 1.09	3.542 ± 0.184	56.541 ± 12.159	59.739 ± 11.968	28.740 ± 1.859	
Dopo 150 min	10.875 ± 1.091	35.437 ± 2.610	5827 ± 848	61.28 ± 0.48	3.305 ± 0.208	57.284 ± 5.876	54.352 ± 7.500	30.497 ± 1.863	

Il 2,3-DPG riferito all'MCV è calato sia nei ratti trattati che in quelli non trattati con MLT, nei primi più che nei secondi dopo 150 min ($0.025<P<0.0125$); sembra perciò che la MLT si opponga alla diminuzione del 2,3-DPG. Riferito ad 1 g Hb, il 2,3-DPG non si è modificato significativamente in nessuno dei due gruppi di ratti; tuttavia la differenza fra un gruppo e l'altro tende ad accentuarsi dopo 150 min.

La percentuale dei linfociti nel sangue periferico è calata significativa-

mente nei 2 gruppi di ratti fino a 60 min dall'inizio: solo nei ratti trattati con MLT però la diminuzione ha continuato fino alla fine; modificazioni opposte hanno mostrato i granulociti. Gli elementi della linea mieloide sono cresciuti relativamente nel midollo da 46.65±4.36 a 49.86±6.34% negli animali non trattati ($0.05<P<0.025$), sono calati quelli della serie linfoide da 28.88±5.46 a 24.85±6.29 sempre negli animali non trattati ($P<0.025$). Nè la serie megacariocitica, nè quella eritroide, nè il rapporto mielo/eritrocitario si sono modificati significativamente.

Concludendo: il trattamento con MLT sembra far calare significativamente rispetto agli animali controllo il contenuto in 2,3-DPG riferito ad 1 globulo rosso. Tale diminuzione è probabilmente in rapporto con la diminuzione dell'MCV, che si avvera soltanto nei ratti trattati con MLT verso la fine dell'esperimento. È probabilmente agendo sul metabolismo dell'acqua dell'eritrocita e sulla mobilitazione dai depositi di eritrociti, che agisce acutamente la MLT. Il trattamento cronico contribuisce verosimilmente a spostare anche le varie componenti del mielogramma, promuovendo validamente l'eritropoiesi.

BIBLIOGRAFIA

[1] Benesch R., R.E. Benesch e Y. Enoki - *Proc. Natl. Acad. Sci.* U.S., 1968, **61**, 1102.

[2] Chanutin A. e R.R. Curnisch - *Arch. Biochem. Biophys.*, 1967, **121**, 96.

[3] Bellingham A.J. e E.R. Huehns - *Nature*, 1968, **218**, 924.

[4] Delivoria-Papadopoulos M., F.A. Oski e A.J. Gottlieb - *Science*, 1969, **165**, 601.

[5] Tyuma I. e K. Shimizu - *Fed. Proc.*, 1970, **29**, 1112.

[6] Bunn H.F. e R.W. Briehl - *J. Clin. Invest.*, 1970, **49**, 1088.

[7] Charache S., S. Grisolia, A.J. Fiedler e A.E. Hellegers - *J. Clin. Invest.*, 1970, **49**, 806.

[8] Oski F.A., A.J. Gottlieb, W.W. Miller e M. Delivoira-Papadopoulos - *J. Clin. Invest.*, 1970, **49**, 400.

[9] Bauer C. - *Resp. Physiol.*, 1970, **10**, 10.

[10] Schettini F., A. Mautone e I. De Lucia - *Boll. Soc. It. Sper.*, 1974, **50**, 215.

[11] Bonaventura J., C. Bonaventura, B. Sullivan e G. Godette - J. Biol. Chem., 1975, **250**, 9250.

[12] Lowry O.H., J.V. Passonneau, F.X. Hasselberg e D.W. Schulz - *J. Biol. Chem.*, 1964, **239**, 18.