

Dot. ARDUINO LENAZ - MARTINO ALBORI

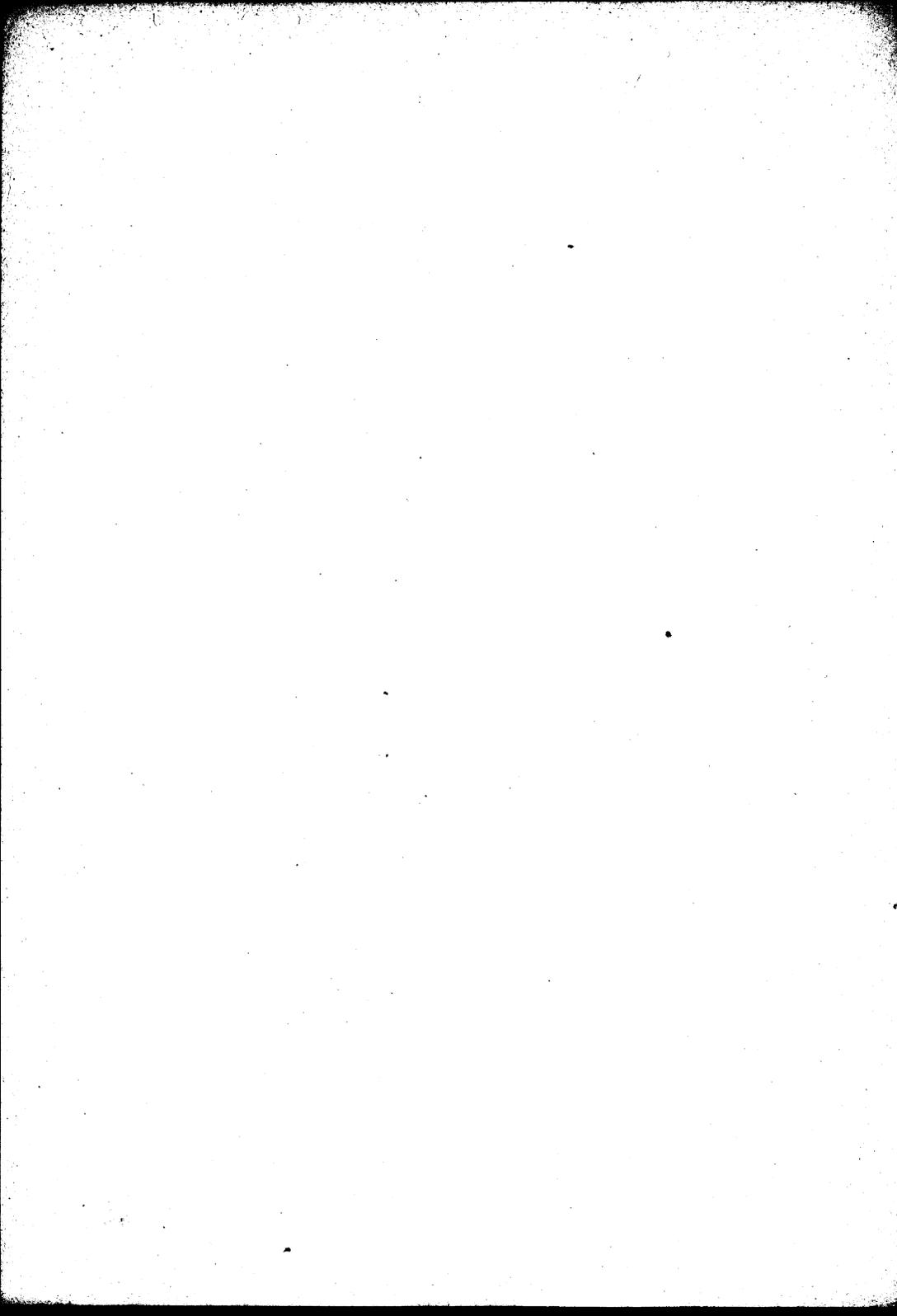
**AZIONE DELLA CITRINA (VITAMINA P)
SUI COLLOIDI.**

Estratto dall'ARCHIVIO
PER LO STUDIO DELLA FISIOPATO-
LOGIA E CLINICA DEL RICAMBIO
Anno X - Fasc. 5



DITTA TIPOGRAFIA CUGGIANI
ROMA - VIA DELLA PACE, 35

1942-XX



AZIONE DELLA CITRINA (VITAMINA *P*) SUI COLLOIDI

DOTT. ARDUINO LENAZ
ASSISTENTE

MARTINO ALBORI
ALLIEVO INTERNO

La Vitamina *C*, isolata da SZENT-GYORGYI [1] sotto forma di acido l-ascorbico e preconizzata come fattore antiemorragico non sempre ha risposto, sotto questo aspetto, alle speranze che aveva generato. Usando al contrario il sugo di limoni o di peperoni in casi di affezioni emorragiche, sembrò ad alcuni Autori di ottenere risultati molto più favorevoli.

In seguito a queste osservazioni SZENT-GYORGYI, ARMENTANO, BEN-SATH e RUSZNYAK [1 e 2] pensarono che tale effetto curativo fosse dovuto ad una azione di insieme della Vitamina *C* e di un'altra Vitamina ancora sconosciuta; pertanto rivolsero i loro studi alla ricerca di questo supposto fattore coesistente all'acido l-ascorbico nel sugo dei peperoni e degli agrumi.

Questi ricercatori sono riusciti così ad isolare tale sostanza in forma cristallizzata e l'hanno chiamata Vitamina *P* ossia Vitamina della permeabilità, per la sua specifica azione regolatrice della permeabilità degli endoteli vasali. Per la sua origine e per il suo colore giallo pallido è stata chiamata anche Citrina.

Con ricerche chimiche successive BRÜCKNER [3] poteva dimostrare che la Citrina isolata dagli Autori ungheresi era una miscela isomorfa di due glicosidi flavanonici e più precisamente di eriodictina ($C_{27}H_{32}O_{15}$) e da esperidina ($C_{28}H_{34}O_{15}$); sembra perciò difficile parlare di fattore vitaminico e la questione è ancora tutt'altro che definita; non è però qui che intendiamo affrontare questo argomento dato che uno di noi si ripromette di rivedere in altra sede tutti gli studi fatti in questi ultimi anni su questa nuova supposta Vitamina.

Le ricerche eseguite con queste sostanze sono state relativamente poche, sia perchè a molti Autori sembrò che le proprietà enunciate da SZENT-GYORGYI non corrispondessero alla realtà, come pure per la grande diffi-

coltà di procurare la sostanza pura: infatti da cento chilogrammi di limoni si ottengono appena due litri di una soluzione di Citrina al 2,5 %.

Abbiamo raccolto accuratamente tutta la bibliografia esistente sull'argomento ed abbiamo notato come siano ben pochi gli Autori che hanno cercato di indagare *in vitro*, prima che *in vivo*, le proprietà della Citrina; come abbiamo già detto uno di noi esporrà in altra sede tutte le acquisizioni sinora raggiunte criticandole al lume dei risultati delle più recenti ricerche sperimentali. Qui vogliamo riferire parte di un vasto gruppo di ricerche che abbiamo condotto con l'intento di chiarire, per quanto è possibile, il modo d'azione di queste sostanze che SZENT-GYORGYI ha voluto chiamare Vitamina P.

Il LENAZ ha già esposto estesamente altrove [4] il concetto del BORTAZZI [5], secondo il quale il protoplasma deve essere considerato come « un sistema colloidale al grado ottimo di imbibizione, otticamente omogeneo, estremamente complesso dal punto di vista della composizione chimica, che costituisce la fase continua od esterna delle cellule ». Partendo da questi concetti abbiamo scelto quindi per le nostre esperienze, come aveva del resto già fatto il HOFMEISTER [6] per i suoi studi sulla chimica delle cellule ed il LENAZ [4] per il comportamento dei colloidi di fronte alla Vitamina C, l'agar in soluzione al 4 %. L'agar è un colloide gelatinoso idrofilo che in queste condizioni si presenta come una massa di consistenza omogenea ed abbastanza elevata, tanto che può venir tagliato in blocchetti che mantengono la propria forma durante le varie manipolazioni.

Questi pezzetti, che preparavamo abbastanza facilmente di forma e di volume uguali, acciocchè il peso e la superficie fossero il più possibile costanti, venivano uncinati con aghi ricurvi, pesati accuratamente con una bilancia a torsione ed infine immersi per tempi prestabiliti nelle diverse soluzioni che si volevano saggiare; poi, dopo essere stati rapidamente asciugati con carta da filtro, venivano pesati di nuovo. Abbiamo voluto escludere che, asciugando i pezzetti dopo l'immersione, questi potessero avere delle variazioni di peso dovute alle manualità: abbiamo eseguito perciò diverse pesate di pezzi bagnati e subito asciugati senza incontrare mai variazioni superiori ad un milligrammo. Quindi, come si vedrà dalle tabelle, crediamo che la tecnica usata per le pesate non possa essere stata fonte di errore.

In quanto alle soluzioni abbiamo usato la Citrina (*) pura, diluita in soluzione tampone a pH = 7,29 per cercare di rimanere quanto più pos-

(*) Ringraziamo la Ditta Bayer la quale ci ha gentilmente fornito la quantità di Citrina necessaria per queste esperienze.

sibile aderenti a ciò che accade in Natura, perchè la sostanza giunge a contatto dei colloidì cellulari diffusa in un veicolo tampone per eccellenza quale il sangue.

Abbiamo diviso queste esperienze in tre gruppi: nel primo gruppo immergevamo i blocchetti del colloide in una soluzione formata da 60 milligrammi di Citrina in 100 cc. di tampone; nel secondo gruppo la soluzione era composta da 120 mgr. di Citrina in 100 cc. di tampone; nel terzo gruppo i pezzetti di agar erano immersi, come controllo, in soluzione tampone pura.

I pezzetti venivano pesati prima di essere immersi nella soluzione prestabilita, poi ancora dopo 10, 20, 30, 60 minuti e dopo 2 e 16 ore. La soluzione tampone a $pH = 7,29$ era composta ogni 100 cc. da 30 cc. di KH_2PO_4 M/15 e da 70 cc. di $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ M/15.

Per semplicità riportiamo per ogni gruppo di esperienze i dati estremi e quelli medi dei valori delle diverse pesate e la loro percentuale espressa in milligrammi.

Ecco ora le diverse tabelle:

I GRUPPO. — *Citrina al 0,6% in soluzione tampone a $pH = 7,29$.*

In questa tabella riportiamo i valori estremi e quelli medi di 22 esperienze.

Tempi	Pesi estremi dei blocchetti di agar in mgr.	Peso medio dell'agar in mgr.	Estremi delle variazi. del peso in mgr.	Variazioni medie del peso in mgr.	Percentuale dell'aumento medio %
Prima dell'esper.	199 - 242	294,8	—	—	—
Dopo 10 m' . .	212 - 352	303,8	+ 5 - + 13	+ 9	3
» 20 » . .	216 - 353	306	+ 5 - + 17	+ 11,2	3,7
» 30 » . .	217 - 357	309,3	+ 5 - + 18	+ 14,5	4,9
» 60 » . .	219 - 362	312	+ 7 - + 20	+ 17,2	5,8
» 2 ore . .	220 - 366	313,1	+ 7 - + 24	+ 18,3	6,2
» 16 » . .	221 - 366	314,6	+ 8 - + 26	+ 19,8	6,7

Esaminando i dati di questa tabella si nota come nella prima ora di immersione si abbia un lieve aumento di peso che raggiunge abbastanza rapidamente il suo valore massimo mentre nelle ore successive l'imbibizione del colloide non progredisce con lo stesso ritmo.

II GRUPPO. — *Citrina all'1,2 % in soluzione tampone a pH = 7,29*
 In questa tabella riportiamo i valori estremi e quelli medi di 21 esperienze.

Tempi	Pesi estremi dei blocchetti di agar in mgr.	Peso medio dell'agar in mgr.	Estremi delle variaz. del peso in mgr.	Variazioni medie del peso in mgr.	Percentuale dell'aumento medio %
Prima dell'esper.	209 - 370	286,1	—	—	—
Dopo 10 m' . .	220 - 380	293,8	+ 6 - + 12	+ 7,7	2,6
» 20 » . . .	224 - 385	295,5	+ 6 - + 15	+ 9,4	3,2
» 30 » . . .	226 - 388	298	+ 7 - + 19	+ 11,9	4,1
» 60 » . . .	226 - 391	301,5	+ 7 - + 22	+ 15,4	5,3
» 2 ore . . .	226 - 393	303,5	+ 8 - + 25	+ 17,9	6
» 16 » . . .	228 - 395	305	+ 8 - + 28	+ 19	6,6

In questo gruppo, ove la concentrazione della Citrina è maggiore, i risultati sono fondamentalmente identici, solo che l'aumento in peso del colloide è minore per una lieve diminuzione dell'idrofilia. Anche in questo gruppo l'aumento è più rapido entro la prima ora, mentre nelle ore successive non progredisce con il ritmo iniziale.

III GRUPPO. — *Controlli con soluzione tampone a pH = 7,29*
 In questa tabella riportiamo i valori estremi e quelli medi di 18 esperienze.

Tempi	Pesi estremi dei blocchetti di agar in mgr.	Peso medio dell'agar in mgr.	Estremi delle variaz. del peso in mgr.	Variazioni medie del peso in mgr.	Percentuale dell'aumento medio %
Prima dell'esper.	190 - 333	279,5	—	—	—
Dopo 10 m' . .	205 - 340	290	+ 7 - + 19	+ 10,7	3,8
» 20 » . . .	211 - 341	293	+ 8 - + 19	+ 13,7	4,9
» 30 » . . .	211 - 343	296,1	+ 10 - + 23	+ 16,8	6
» 60 » . . .	212 - 345	299,3	+ 11 - + 29	+ 20	7,1
» 2 ore . . .	212 - 345	301,3	+ 13 - + 31	+ 22	7,8
» 16 » . . .	213 - 347	303	+ 14 - + 32	+ 23,7	8,9

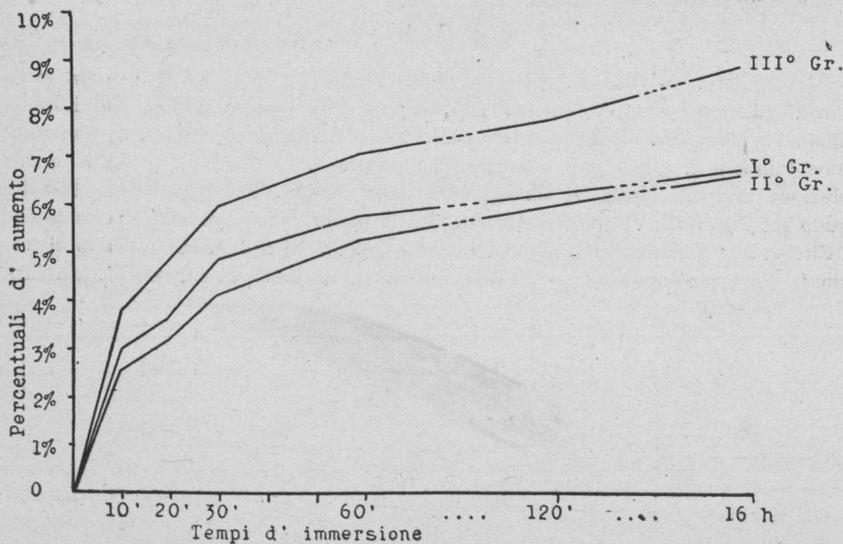
In questo gruppo sono riportati i risultati dei controlli; qui il liquido ove il colloide veniva immerso era composto da una soluzione tampone pura a pH = 7,29 senza alcuna aggiunta di Citrina. Anche qui le esperienze hanno avuto un andamento uguale a quelle precedenti solo che i valori sono stati più alti per un aumento dell'imbibizione del colloide.

Da queste esperienze si può dunque dedurre come la Citrina faccia diminuire l'assorbimento del liquido da parte dei colloidi, e, se vogliamo ammettere col GELLHORN [7] che l'imbibizione d'un colloide sia l'esponente della sua permeabilità, possiamo dire come l'agar immerso in una soluzione di Citrina diminuisca la propria permeabilità verso il liquido che lo circonda.

Per maggior chiarezza uniamo in una unica tabella, in modo che sia facile il paragone, il valore in percentuale di ogni singolo dato:

Tempo d'immersione nelle diverse soluzioni	Aumento % di peso		
	I GRUPPO Citrina 0,6 ‰	II GRUPPO Citrina 1,2 ‰	III GRUPPO Controlli
Dopo 10 m'	3	2,6	3,8
» 20 »	3,7	3,2	4,9
» 30 »	4,9	4,1	6
» 60 »	5,8	5,3	7,1
» 2 ore	6,2	6	7,8
» 16 »	6,7	6,6	8,9

valori questi che si possono pure esprimere nella seguente grafica:



Qualsiasi commento sarebbe superfluo data l'evidenza della tabella e della grafica: non ci resta che affermare come un blocchetto di agar — colloide gelatinoso idrofilo — se immerso in soluzione tampone a pH costante, assunta molto meno liquido se in presenza di Citrina.

Quale importanza possiamo attribuire a questo fenomeno?

Sull'identità tra idrofilia colloidale e permeabilità colloidale non ci sembra necessario soffermarci perchè dopo le belle ricerche di GELLHORN e della sua Scuola [7] questa identità è ammessa da tutti gli Autori.

Ma per lo scopo delle nostre ricerche è più importante il fatto che l'assorbimento d'acqua da parte dei gel sia di un'estrema importanza in fisiologia, perchè il protoplasma delle cellule degli animali superiori è un gel, e molte delle attività fisiologiche sembrano dovute all'assorbimento ed alla perdita d'acqua da parte di varie parti del protoplasma. Sembra infatti che la meccanica, ossia la parte fisica dell'attività del protoplasma, sia in gran parte una questione di assorbimento e perdita disciplinata di acqua per opera dei colloidi cellulari (MATHEWS [8]).

Avendo potuto dimostrare una netta influenza della Citrina sull'idrofilia colloidale *in vitro* ci sembra logico pensare che la stessa influenza possa essere esplicita dalla Citrina pure *in vivo* sui complessi colloidal cellulari e questo è un argomento non privo di importanza pratica che ci ripromettiamo di chiarire in un'altra nostra nota.

(Pervenuto in Redazione
il 31 marzo 1942-XX)

RIASSUNTO. — Gli AA. hanno saggiato l'influenza della Citrina — da molti Autori chiamata pure Vitamina P o Vitamina della permeabilità — sull'idrofilia colloidale. Hanno così potuto vedere come blocchetti di agar immersi in una soluzione tampone a pH = 7,29 aumentano il proprio peso molto di più che se alla soluzione tampone stessa vi sia aggiunta della Citrina. Per questo essi, identificando col GELLHORN l'idrofilia colloidale con la permeabilità colloidale, pensano che la Citrina faccia diminuire la permeabilità dei colloidi. Si ripromettono perciò di esaminare con esperienze successive l'influenza di questa sostanza sui colloidi cellulari.

348764

BIBLIOGRAFIA

- [1] SZENT-GYORGYI e Coll., *Natura della Vitamina P*, « Nature », London 138: 798, 7-XI-1936.
- [2] — *La Vitamina P*, « Nature », London, 138, 1057, 19-XII-1936.
- [3] BRÜCKNER e Coll., *Natura Chimica della Vitamina P*, « Nature », London 138, 19-XII-1936.
- [4] LENAZ A., *Vitamina C e colloid*, « Bollett. Scienze Med. », f. v. 1940.
- [5] BOTTAZZI, « Archivio di Scienze Biologiche », 1927.
- [6] HOFMEISTER, « Naturw. Rundschau », 591, 1901.
- [7] GELLHORN, *La Perméabilité*, Masson, 1936, Parigi.
- [8] MATHEWS, *Chimica Fisiologica*, Vallardi 1932.

97999

