

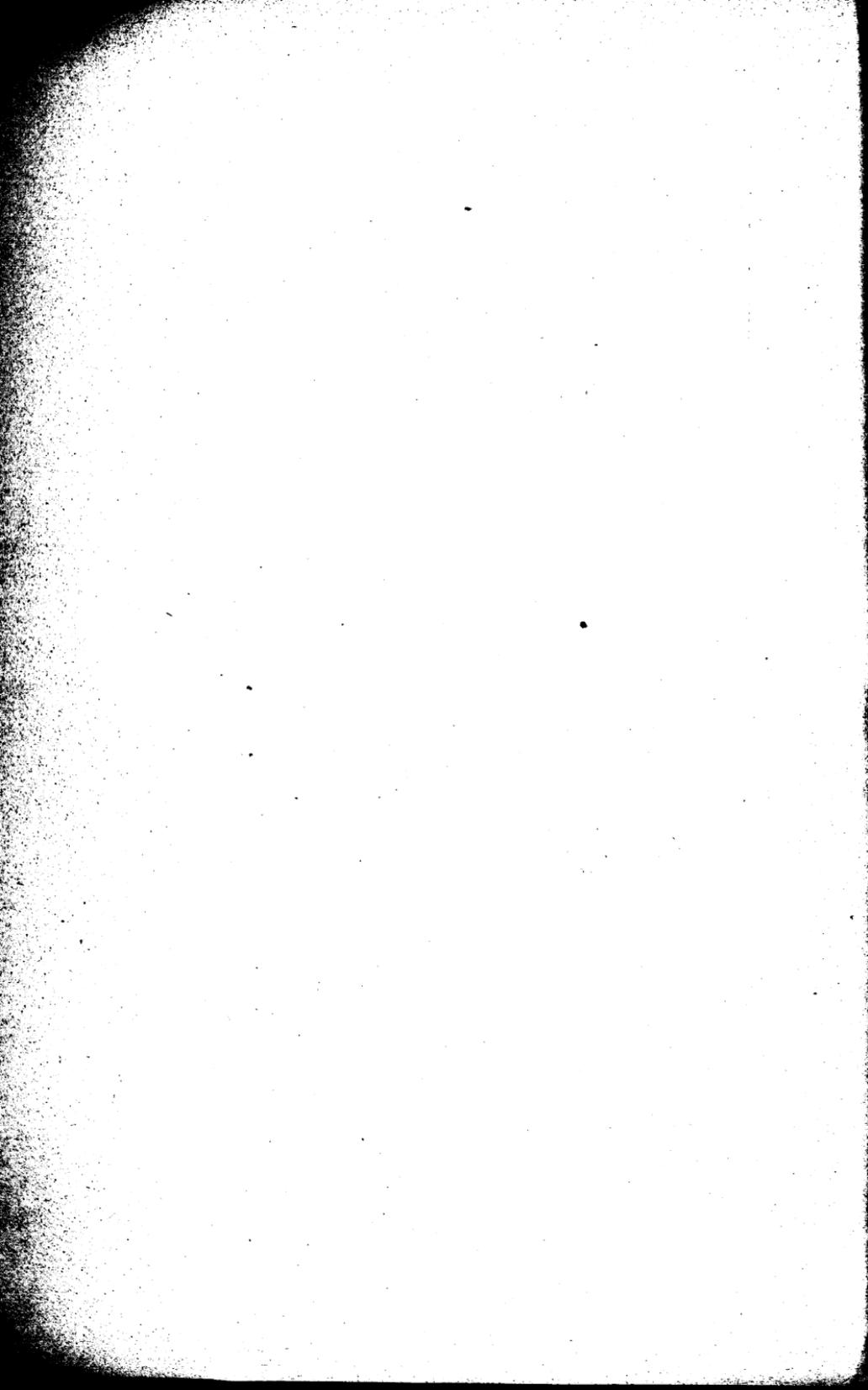
Dott. ARDUINO LENA Z - MARTINO ALBORI

**RESISTENZE GLOBULARI E CITRINA
(VITAMINA P).**

Estratto dall'ARCHIVIO
PER LO STUDIO DELLA FISIOPATO-
LOGIA E CLINICA DEL RICAMBIO
Anno X - Fasc. 6



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



RESISTENZE GLOBULARI E CITRINA (VITAMINA P)

DOTT. ARDUINO LENAZ

ASSISTENTE

MARTINO ALBORI

ALLIEVO INTERNO

In questi ultimi anni sono stati realizzati notevoli progressi nello studio delle Vitamine e ne sono risultate delle interessantissime deduzioni fisiopatologiche ma anche una maggiore complessità nell'interpretazione del meccanismo dei diversi fattori vitaminici.

Nello studio dello scorbuto sperimentale, per esempio, le osservazioni rilevate da diversi AA, non ci permettono di considerare questa affezione come il solo risultato di una avitaminosi C. Così gli AA, che si sono occupati di questa questione sono arrivati alla necessità di ammettere l'intervento di altri fattori; per SZENT-GYORGY [1] e per i suoi collaboratori si tratterebbe di Flavoni che essi radunano sotto il nome generico di Vitamina P (Vitamina della permeabilità o Citrina): Questa sostanza agirebbe in modo specifico sulla permeabilità capillare e su quella degli endoteli in genere.

Come abbiamo già detto in un'altro nostro lavoro [2] le ricerche eseguite con queste sostanze sono state relativamente poche; soprattutto scarsi sono stati i contributi con esperimenti *in vitro*. In nostre ricerche precedenti [2] abbiamo potuto constatare come i blocchetti di agar immersi in una soluzione tampone a $\text{pH} = 7,29$ (ogni 100 cc. 30 cc. di KH_2PO_4 M/15 e 70 cc. di $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ M/15) assumano molto meno liquido se nella soluzione tampone vi sia aggiunta della Citrina. Perciò, identificando col GELLHORN [3] l'idrofilia colloidale con la permeabilità dei colloidi stessi verso la soluzione in cui si trovano, abbiamo pensato che la Citrina ne faccia diminuire la permeabilità. È per questo che abbiamo cercato di studiare, colle ricerche che esponiamo in questa nota, le variazioni di permeabilità che la Citrina può addurre *in vivo* a cellule animali.

Da tempo è noto che gran parte dei fenomeni emolitici possono essere considerati come fenomeni della permeabilità (GELLHORN [3]); è per que-

sto che abbiamo creduto utile scegliere questa via e studiare il comportamento delle resistenze globulari in animali trattati con Citrina ed in animali controllo perchè questa è una tecnica che non apporta alcun trauma alle cellule che si vogliono esaminare ed all'organismo dell'animale mentre permette di valorizzare le eventuali variazioni della resistenza come esponente di una mutata permeabilità delle emazie stesse.

Per permeabilità dei corpuscoli rossi, e prendiamo questi come prototipo delle cellule animali, intendiamo la facilità maggiore o minore che la loro membrana plasmatica (membrana nel senso fisico-chimico e non istologico) consente al passaggio delle varie sostanze che possono essere disciolte nei liquidi in cui si trovano. La permeabilità dei corpuscoli rossi è poi essenzialmente uguale a quella delle altre cellule animali (VIALE [4]).

I globuli rossi quindi, come tutte le cellule dell'organismo, soggiacciono alle leggi dell'osmosi: in liquidi che possiedono nell'unità di volume ugual numero di molecole non ha luogo scambio di sostanze, vi è isotonia, cioè la pressione osmotica è la stessa. Una soluzione di cloruro di sodio al 0,9 % è isotonica rispetto al plasma contenuto nello stroma globulare; in essa quindi non si verifica alcuno spostamento di sostanze e gli eritrociti conservano la loro integrità; ma posti a contatto con soluzioni più concentrate, ipertoniche, rispetto alla precedente che è la vera soluzione fisiologica, si raggrinzano per sottrazione di acqua; nelle soluzioni a concentrazione inferiore al 0,9 % — soluzioni ipotoniche — i globuli si gonfiano, e, raggiunto un alto grado di inturgidamento, si emolizzano.

Di questo comportamento si trae profitto per misurare la resistenza dei globuli rossi fuori dell'organismo, *in vitro*, di fronte a soluzioni clorodiche ipotoniche, cioè per giudicare della maggiore o minore permeabilità delle emazie alle soluzioni cloro-sodiche.

L'esperienza ha dimostrato che non tutti i corpuscoli rossi di un determinato individuo sono ugualmente sensibili di fronte alla stessa soluzione ipotonica, perchè un certo numero si emolizza già in una soluzione salina che sia solo lievemente ipotonica, ancora molto vicina, per concentrazione osmotica, al plasma sanguigno, mentre altri corpuscoli si emolizzano solo in diluizioni molto più forti.

La massima parte dei corpuscoli rossi del sangue normale non si dissolve più ad una concentrazione di 0,38 % di cloruro di sodio (resistenza media); ne rimane una minima parte, assai meno resistente, che seguita a dissolversi fino ad una concentrazione di 0,48 % (resistenza minima). Di queste due isotonie la più importante è la prima essendo quella della massima parte dei globuli rossi. Vi è poi una terza isotonia detta massima, che è privilegio di qualche veramente raro elemento.

Riassumendo si possono dunque distinguere tre gruppi di emazie:

- 1) di resistenza massima formata da pochi globuli ed indicata con R_1 (nella cavia normale $R_1 = 0,26$);
- 2) uno di resistenza media formata dalla massima parte dei globuli ed indicata con R_2 (nella cavia normale $R_2 = 0,38$);
- 3) uno di resistenza minima, formato da pochi elementi ed indicato con R_3 (nella cavia normale $R_3 = 0,46$).

Date queste premesse passiamo ora ad esporre i risultati delle nostre esperienze. La tecnica usata è stata molto semplice: eseguivamo le ricerche su cavie del peso di gr. 400 circa, vissute nello stesso ambiente ed alimentate con lo stesso vitto: in queste determinavamo le resistenze dopo averle tenute per 12 ore a digiuno; si prelevava il sangue strettamente necessario con puntura intracardiaca; nei tre giorni seguenti iniettavamo per via endoperitoneale quantità varie di Citrina (¹) a seconda dei gruppi in cui abbiamo suddiviso le ricerche. In questi tre giorni il vitto degli animali era lo stesso di quello precedentemente somministrato; allo scadere del terzo giorno, previo nuovo digiuno di 12 ore, determinavamo nuovamente le resistenze con le stesse modalità della prima volta.

Abbiamo esaminato così tre gruppi di cavie: il primo gruppo era composto dai controlli (7 cavie) perchè abbiamo voluto inizialmente vedere se le manualità tecniche, il lieve salasso o se anche spontaneamente le resistenze subivano qualche variazione; il secondo gruppo era formato da un lotto di 6 cavie alle quali avevamo somministrato 60 mmgr. di Citrina al dì e quindi nei tre giorni un totale di 180 mmgr. Il terzo gruppo era pure formato da un lotto di 6 cavie alle quali avevamo somministrato 100 mmgr. di Citrina al dì e quindi complessivamente 300 mmgr.

Riportiamo ora i risultati dei singoli gruppi e, per chiarezza, diamo pure la media dei valori ottenuti nelle diverse esperienze.

I GRUPPO.

In questo lotto composto di 7 cavie i prelievi venivano eseguiti con la tecnica già esposta; nei tre giorni intercorrenti tra i due prelievi a quattro di queste cavie abbiamo iniettato per via endoperitoneale due cc. di soluzione tampone a $pH = 7,29$ onde introdurre nelle cavie controllo la

(¹) Ringraziamo vivamente la Ditta Bayer che ci ha fornito con larghezza la Citrina occorrente alle nostre esperienze.

stessa quantità di liquido a pH = 7,29 usata per gli animali degli altri gruppi; le tre rimanenti non hanno subito alcun trattamento.

In tutte le cavie di questo primo gruppo i valori sono stati costantemente uguali, tanto al primo esame quanto al secondo. Data l'uniformità del reperto riportiamo per brevità solo la media di tutti i valori:

Prima dell'esperienza

$$\begin{aligned} R_1 &= 0,26 \\ R_2 &= 0,38 \\ R_3 &= 0,48 \end{aligned}$$

Dopo l'esperienza

$$\begin{aligned} R_1 &= 0,26 \\ R_2 &= 0,38 \\ R_3 &= 0,48 \end{aligned}$$

Da queste esperienze si può notare che: 1) le resistenze globulari di cavie normali, tenute a regime di vita uguale, non mutano i propri valori; 2) una soluzione tampone a pH = 7,29 introdotta nel peritoneo di cavie normali tenute alla stessa dieta non modifica i valori delle resistenze globulari.

II GRUPPO.

In questo gruppo la tecnica è stata la stessa di quella del gruppo precedente. Solo che qui invece di iniettare nel peritoneo della soluzione tampone pura la iniettavamo come veicolo di 180 milligrammi di Citrina, cioè ogni giorno e per tre giorni, iniettavamo due cc. di soluzione tampone a pH = 7,29 nei quali facevamo sciogliere 60 mmgr. di Citrina pura.

Ecco i risultati dettagliati:

Prima dell'esperienza

CAVIA Nr. 1: $\begin{aligned} R_1 &= 0,26 \\ R_2 &= 0,38 \\ R_3 &= 0,48 \end{aligned}$

Dopo l'esperienza

$$\begin{aligned} R_1 &= 0,28 \\ R_2 &= 0,34 \\ R_3 &= 0,54 \end{aligned}$$

CAVIA Nr. 2: $\begin{aligned} R_1 &= 0,26 \\ R_2 &= 0,38 \\ R_3 &= 0,48 \end{aligned}$

$$\begin{aligned} R_1 &= 0,32 \\ R_2 &= 0,34 \\ R_3 &= 0,56 \end{aligned}$$

CAVIA Nr. 3: $\begin{aligned} R_1 &= 0,24 \\ R_2 &= 0,36 \\ R_3 &= 0,48 \end{aligned}$

$$\begin{aligned} R_1 &= 0,32 \\ R_2 &= 0,34 \\ R_3 &= 0,52 \end{aligned}$$

CAVIA Nr. 4: $\begin{aligned} R_1 &= 0,26 \\ R_2 &= 0,38 \\ R_3 &= 0,48 \end{aligned}$

$$\begin{aligned} R_1 &= 0,28 \\ R_2 &= 0,34 \\ R_3 &= 0,56 \end{aligned}$$

	<i>Prima dell'esperienza</i>	<i>Dopo l'esperienza</i>
CAVIA Nr. 5:	$R_1 = 0,26$	$R_1 = 0,32$
	$R_2 = 0,38$	$R_2 = 0,34$
	$R_3 = 0,48$	$R_3 = 0,54$
CAVIA Nr. 6:	$R_1 = 0,26$	$R_1 = 0,30$
	$R_2 = 0,38$	$R_2 = 0,34$
	$R_3 = 0,48$	$R_3 = 0,52$

Per chiarezza diamo la media di tutti i risultati di questo lotto di 6 cavie.

<i>Prima dell'esperienza</i>	<i>Dopo l'esperienza</i>
$R_1 = 0,26$	$R_1 = 0,30$
$R_2 = 0,38$	$R_2 = 0,34$
$R_3 = 0,48$	$R_3 = 0,54$

Da questi dati possiamo notare come la R_1 e la R_3 (resistenza massima e resistenza minima), diminuiscano emolizzandosi le emazie rispettivamente invece che in una soluzione di NaCl al 0,26 % in una al 0,30 % e che in una soluzione al 0,46 % in una al 0,54 %; la R_2 (resistenza media) aumenta invece la propria resistenza da 0,38 a 0,34. Quando discuteremo più oltre questi risultati vedremo quale interpretazione si possa dare.

III GRUPPO.

In questo gruppo le esperienze sono identiche alle precedenti solo che la quantità di Citrina complessivamente introdotta in ogni cavia era di 300 mgr.

Ecco i dati di queste esperienze.

	<i>Prima dell'esperienza</i>	<i>Dopo l'esperienza</i>
CAVIA Nr. 1:	$R_1 = 0,26$	$R_1 = 0,28$
	$R_2 = 0,38$	$R_2 = 0,32$
	$R_3 = 0,48$	$R_3 = 0,56$
CAVIA Nr. 2:	$R_1 = 0,26$	$R_1 = 0,28$
	$R_2 = 0,38$	$R_2 = 0,30$
	$R_3 = 0,48$	$R_3 = 0,56$
CAVIA Nr. 3:	$R_1 = 0,24$	$R_1 = 0,26$
	$R_2 = 0,38$	$R_2 = 0,34$
	$R_3 = 0,50$	$R_3 = 0,58$

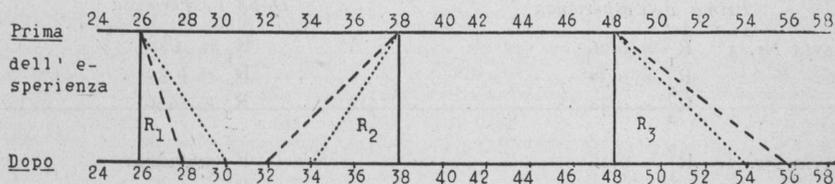
	<i>Prima dell'esperienza</i>	<i>Dopo l'esperienza</i>
CAVIA Nr. 4:	$R_1 = 0,26$ $R_2 = 0,38$ $R_3 = 0,48$	$R_1 = 0,28$ $R_2 = 0,32$ $R_3 = 0,58$
CAVIA Nr. 5:	$R_1 = 0,26$ $R_2 = 0,38$ $R_3 = 0,48$	$R_1 = 0,28$ $R_2 = 0,32$ $R_3 = 0,54$
CAVIA Nr. 6:	$R_1 = 0,26$ $R_2 = 0,38$ $R_3 = 0,48$	$R_1 = 0,28$ $R_2 = 0,32$ $R_3 = 0,54$

Anche per questo gruppo diamo per chiarezza la media dei risultati che è stata:

<i>Prima dell'esperienza</i>	<i>Dopo l'esperienza</i>
$R_1 = 0,26$	$R_1 = 0,28$
$R_2 = 0,38$	$R_2 = 0,32$
$R_3 = 0,48$	$R_3 = 0,56$

Da questi dati si può rilevare come la resistenza globulare media (R_2) aumenti ancora di più che nel gruppo precedente mentre la R_1 e la R_3 diminuiscono la propria resistenza emolizzandosi le emazie del primo gruppo a 0,28 anziché a 0,26 mentre nel secondo i globuli rossi si emolizzano a 0,56 anziché a 0,46. Prenderò in considerazione anche questi dati nella discussione dei reperti.

Riassumendo quindi mentre le resistenze delle cavie controllo (I gruppo) sono rimaste immutate le altre hanno subito tutte delle variazioni che si possono esprimere chiaramente nella seguente grafica:



ove le linee continue esprimono i dati del I gruppo, le linee punteggiate le variazioni del II gruppo e le linee tratteggiate quelle del III gruppo.

Quale interpretazione possiamo dare a questi risultati? La gran massa dei globuli rossi delle cavie trattate (R_2) ha aumentato la propria resistenza

e, quindi, diminuita la permeabilità emolizzandosi a 0,33 (media del II e III gruppo) anziché a 0,38 (valore normale) mentre la quantità trascurabile delle emazie rappresentata dalla R_1 e R_3 ha diminuita la propria resistenza aumentando quindi la permeabilità.

È veramente strana la diversità di questi risultati; perchè tutte e tre le resistenze non si sono comportate allo stesso modo aumentando o diminuendo uniformemente il proprio valore? A parte il fatto che in queste prove la parte che ha veramente importanza è la R_2 , perchè a parere uniforme di tutti gli AA. è la espressione della quasi totalità delle emazie, noi crediamo, anche richiamandoci per spiegare il fatto della diversità del comportamento delle tre frazioni alle ricerche e conclusioni del VIOLA [5] il quale pensa che variazioni della R_1 e R_3 siano espressioni di processi di distruzione e di rigenerazione, e che lo spostamento della R_2 , rappresentante la parte di vita media normale del globulo rosso, sia dovuto ad alterazioni reali delle proprietà osmotiche delle emazie.

Possiamo affermare che questa azione della Citrina è una vera diminuzione della permeabilità perchè nei globuli rossi delle nostre cavie non siamo mai riusciti a vedere una pachidermia e tanto meno i corpi di Heinz, alterazioni queste alle quali è dovuta la maggior resistenza che si può ottenere per azione della fenilidrazina, dell'etere, del cloroformio, o del veleno di cobra.

Dato quindi che nei tre gruppi delle nostre esperienze il solo fattore che variava era la Citrina, dobbiamo concludere che questa sostanza, introdotta nell'organismo per via parenterale è capace di variare la permeabilità delle emazie aumentando la loro resistenza verso soluzioni ipotoniche di cloruro di sodio.

*(Pervenuto in Redazione
il 31 marzo 1942-XX)*

RIASSUNTO. — In un gruppo di ricerche condotte su cavie nell'intento di vedere se la Citrina poteva variare le resistenze globulari, gli AA. hanno notato come questa sostanza introdotta in peritoneo alla dose di 180-300 mgr. in tre giorni, facesse aumentare la resistenza media portando il suo valore da $R_2 = 0,38$ a $R_2 = 0,33$ (valori medi).

Essendo la resistenza globulare espressione della permeabilità delle emazie (GELLHORN) gli AA. concludono dicendo come si possa affermare che la Citrina riesce a diminuire la permeabilità cellulare.

BIBLIOGRAFIA

- [1] SZENT-GYÖRGYI e Coll., *La Vitamina P*, « Nature », 138, 1057, 19, XII, London, 1936.
- [2] LENAZ A. e ALBORI M., *Azione della Citrina sui colloidi*. Questa Rivista anno X, n. 5, p. 221.
- [3] GELLHORN, *La perméabilité*, Masson, Parigi, 1936.
- [4] VIALE, *Fisico-chimica Biologica*, U.T.E.T., 1931.
- [5] VIOLA, *Trattato di Semeiotica*, Vallardi, Milano.

97998

~~349111~~

