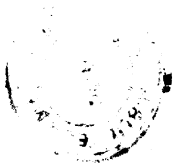


M. B. 73 / 33
106

Dott. G. MAGGIONI

Clinica Pediatrica della Università di Roma - Dir. Prof. G. Frontali

85 / 33 b



L'«acido folico» un nuovo preparato ad azione antianemica

Estratto da «CLINICA NUOVA»

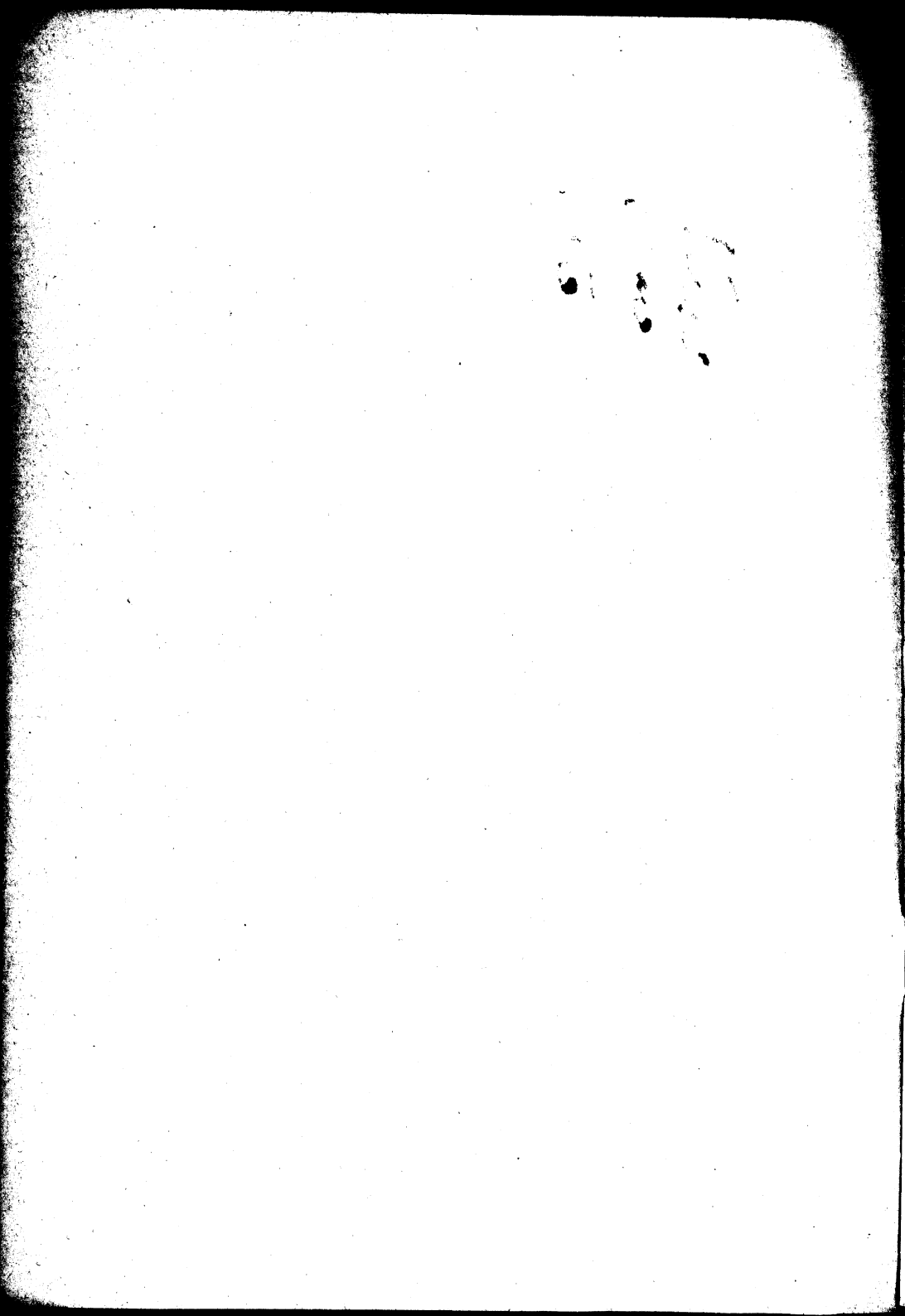
Gennaio-Febbraio 1947 A. III - N. 1-2

«CLINICA NUOVA»

RASSEGNA DEL PROGRESSO MEDICO INTERNAZIONALE

DIREZIONE, REDAZIONE, AMMINISTRAZIONE

ROMA - VIALE XXI APRILE, 13 - TEL. 82458



LA POSSIBILITA' di individuare e di isolare nuovi fattori vitaminici si è mostrata strettamente connessa con i metodi di indagine. A tale scopo vengono usati sia l'uomo, sia i comuni animali di laboratorio, sia più recentemente i microorganismi.

L'impiego di questi ultimi nella tecnica vitaminologica ha segnato un notevole progresso non solo nell'identificazione di alcune nuove vitamine (ad es. l'ac. pantotenico, l'acido para-aminobenzoico), ma per la determinazione quantitativa della tiamina, della lattoflavina, dell'ac. nicotinico ect.

Nel 1936 Orla-Jensen e coll. (1) rendevano noto che i bacilli dell'ac. lattico richiedevano per svilupparsi la presenza di ac. pantotenico e di lattoflavina nei terreni di cultura. Più tardi nel 1940 Snell e Peterson (2) in una serie di ricerche sui « fattori di crescita » per i batteri osservavano che certi batteri dell'ac. lattico non crescevano che in presenza di particolari estratti vegetali o animali. L'estratto di lievito e la frazione idrosolubile del fegato erano ricchi di questo fattore « norite eluate factor », necessario per lo sviluppo del *Lactobacillus Casei* (LC) usato come organismo di prova.

Nel tentativo di isolare questo fattore o di riconoscerne l'esistenza in altre sostanze Mitchell e coll. (3) ottenevano dallo spinacio un fattore di crescita altamente concentrato per lo *Streptococcus Lactis* R (SLR), che stimolava pure la crescita del LC e per il quale proponevano il nome di *ac. folico* dal materiale usato per l'estrazione (foglie di spinacio).

Anche nel fegato, nel lievito e in altre sostanze era presente un *quid* con attività eguale all'ac. folico. Venivano così allestiti metodi biologici « microbiological tests » per riconoscere la presenza dell'ac. folico sia con lo SLR (Mitchell e Snell (4)), sia con il LC Landi e Dickens (5).

Continuando le ricerche sull'argomento Keresztesy e coll. (6) nel 1943 riuscivano ad isolare dal fegato un fattore che, molto attivo per la crescita dello SLR, non aveva influenza sul LC. Però aggiungendo 1 cc. del liquido sovrastante una coltura di 24 h di SLR ad una coltura di LC,

(*) Borsa di studio del British Council per l'anno accad. 1946-47 presso il Children's Hospital della Università di Birmingham (Inghilterra).

questa si sviluppava ottimamente. In altre parole il fattore SLR sembrava venire convertito in ac. folico dagli streptococchi, cioè trasformarsi da inattivo in forma attiva.

Mims e coll. (7) ottenevano dal fegato di ratto un preparato enzimatico capace di produrre il fattore stimolante lo SLR da materiale inattivo (ad es. la patata) e ammettevano come probabile l'esistenza di un « potential folic acid factor » convertibile da enzimi nella forma attiva. Altri AA. notavano in seguito che tale enzima è largamente distribuito negli organi e nei tessuti di vari animali (cane, coniglio, maiale ect.) specie nel cervello, nel pancreas, nel rene ect. [Laskowski e coll. (8)].

* * *

La presenza nel lievito di sostanze attive nel prevenire e nel curare certe anemie alimentari era già stata messa in evidenza fin dal 1931 da Wills (9) in India, in una particolare anemia gravidica con macrocitosi delle popolazioni locali. Insieme a Bilimoria (10) lo stesso A. otteneva con una dieta speciale analogo quadro clinico nelle scimmie ed eguale risultato terapeutico con l'aggiunta di lievito all'alimento.

Anche Day e coll. (11) nel 1935 alimentando giovani scimmie con una dieta sufficiente in proteine, grassi minerali, carboidrati e vitamine A, B, C e D riuscivano a produrre anemia marcata con leucopenia, ulcerazioni dell'intestino accompagnate da diarrea negli animali. Tale quadro veniva impedito dall'aggiunta di lievito di birra in toto o da estratti epatici, mentre la tiamina, la riboflavina, e più tardi l'ac. nicotinico da soli o insieme si mostravano senza effetto [Langston e coll. (12)]. Per tale nuovo fattore veniva proposto da Day e coll. il nome di vit. M.

Le anemie alimentari nelle scimmie diventavano così campo di ricerca da parte di numerosi AA. americani e nel 1943 Waisman e Elvehjem (13) riferivano l'interessante osservazione che il « norite eluate factor » di Snell e Peterson (2) ottenuto dal fegato, guariva rapidamente la sindrome da deficit di vit. M. Dal canto loro Totter e coll. (14) studiando comparativamente sulle scimmie il contenuto in ac. folico e l'attività vit. M di molte sostanze, notavano che esisteva maggior concordanza tra quantità di ac. folico e attività M-vitaminica di uno stesso materiale se questo veniva precedentemente incubato con fegato fresco di ratto. Più recentemente Day e coll. (15) con un preparato altamente concentrato del fattore di crescita per il LC ottenevano la guarigione dell'anemia alimentare surriferita nelle scimmie.

* * *

Nel 1939 Hogan e Parrott (16) avevano prodotto nel pulcino con una dieta carenziata particolare, sviluppo ritardato e anemia ipercromica macrocitica non curabili nè prevenibili con le vitamine allora note, bensì

con estratti idrosolubili di fegato o con lievito di birra. Gli AA. ritennero di avere identificato un nuovo fattore per il pulcino (*chick*) e lo chiamarono vitamina Bc.

La possibilità di sperimentare abbastanza facilmente su questo animale indusse Pfiffner e coll. (17) ad iniziare una serie di ricerche nel tentativo di isolare questo fattore antianemico. Ben presto essi si accorsero che il fattore del lievito differiva chimicamente dalla vitamina Bc degli estratti di fegato. Frattanto Mills e coll. (18) lavorando pure sui pulcini suggerivano l'ipotesi che il fattore antianemico per il pulcino e il fattore di crescita per i microbatteri — ambedue estraibili dal fegato — fossero identici o per lo meno molto simili.

Usando sia i tests microbiologici sia quelli sul pulcino Pfiffner e coll. (19) riuscivano più tardi ad isolare dal fegato un composto cristallino fornito di attività sia sul pulcino sia sui batteri e che provvisoriamente chiamavano ancora vit. Bc. I concentrati di lievito invece, ricchi del fattore antianemico del pulcino, dimostravano scarso effetto sulla crescita del LC. Tuttavia se questi concentrati venivano sottoposti a particolari azioni enzimatiche divenivano attivi anche sui batteri.

A Brinlkey e Pfiffner (20) venne di conseguenza l'idea di usare sul « lievito digerito » la tecnica impiegata nell'isolamento del composto cristallino dal fegato, ottenendo così un preparato cristallino che aveva la stessa azione di crescita sul LC e sullo SLR, come pure sull'accrescimento e sulla crasi ematica del pulcino.

Queste sostanze ricavate dal fegato e dal lievito digerito mostravano un eguale spettro di assorbimento nell'ultravioletto, analoghe proprietà cristallografiche e chimiche. Gli AA. suggerivano di chiamare il fattore antianemico per il pulcino ricavato dal lievito « vit. Bc coniugata » e l'enzima che forma la vit. Bc da esso « vit. Bc coniugasi ».

Senza addentrarci in ulteriori dettagli sulle numerose ricerche, questo gruppo di ricercatori facenti capo a Pfiffner riuscì anche ad isolare dal lievito un composto cristallino che per le sue caratteristiche si rivelò essere la vit. Bc in forma coniugata. Questo nuovo prodotto stimola scarsamente la crescita del LC mentre ha azione antianemica sul pulcino.

c.

* * *

Fin dal 1933 Parsons e coll. (21) avevano osservato che ratti alimentati con solo latte liquido andavano incontro ad una anemia ipocromica spiccata curabile con l'aggiunta di lievito nella dieta. Circa 10 anni dopo altri AA. ottenevano con l'aggiunta di sulfamidici (succinilsulfatiazolo, sulfaguanidina) a particolari diete purificate ritardo della crescita e spesso leucopenia e un quadro midollare similaplastico nello stesso animale (v. rassegna di Berry e Spies (22).

Welch e Wright (23), Nielson e Elvehjem (24) con la somministrazione di ac. folico nell'alimentazione suddetta notavano ripresa della crescita e Kornberg e coll. (25) con frazioni di estratti epatici che contenevano il fattore del LC, scomparsa della granulocitopenia e ritorno al numero normale delle emazie in pochi giorni (4-10 gg.).

Mallory e coll. (26) aggiungendo estratti di lievito alle diete dei ratti resi leucopenici con il succinilsulfatiazolo, benchè questi contenessero scarse quantità di fattore per la crescita dello SLR, notavano negli animali una crescita migliore e un quadro leucocitario più soddisfacente di quello dei ratti che ricevevano estratti di fegato a contenuto di fattore per lo SLR fino a 15 volte superiore. Tale contrasto veniva appianato se la quantità di fattore SLR presente nel lievito veniva espressa in quantità potenziale di fattore SLR. In base a tali fatti gli AA. prospettavano l'ipotesi che il fattore antagonista dell'azione dei sulfamidici nei ratti fosse la vit. M.

Pur tra notevoli difficoltà e discordanze alcuni AA. [Kornberg e coll. (27)] riuscivano talvolta a produrre arresto e caduta del peso insieme a granulocitopenia nel ratto in assenza di sulfamidici nella dieta e poi con somministrazione del fattore di crescita per il LC aumento dei globuli bianchi (da 500 a 5000 per mm^3) e ripresa della crescita. Queste osservazioni sembravano eliminare la possibilità di una influenza tossica dei sulfamidici nel produrre tale carenza nei ratti [v. Berry e Spies, (22)].

Anche nelle cavie Woolley (28) otteneva arresto della crescita con una alimentazione a base di caseina, saccarosio, sali inorganici, grassi vegetali e vit. A, C, D, E, K, riboflavina, piridoxina, ac. nicotinico, colina e inositol. Questo fenomeno era impedito dall'aggiunta di vit. Bc in forma cristallina nella dose di mgr. 5 al dì [Woolley e Springe, (29)].

La letteratura sui fattori alimentari per la crescita, oltre a costituire un campo quanto mai complicato, specie per la diversa terminologia usata, ha raggiunto tali proporzioni che superano i limiti assegnati alla nostra rassegna.

Berry e Spies (22) nella loro recente rivista sull'argomento, allo scopo di guidare il lettore presentano una tabella nella quale sono elencati non meno di una ventina di fattori isolati dai vari AA. nelle ricerche sui microorganismi, i pulcini, i ratti e le scimmie, fattori che presentano rapporti e analogie.

APPLICAZIONI CLINICHE

Dopo questa scorsa nel campo strettamente sperimentale sugli animali, nella quale abbiamo cercato di mettere in evidenza i punti di contatto tra fattori di crescita per i batteri dell'ac. lattico, la vit. M, la vit. Bc e i principi antianemici nel ratto, nel graduale succedersi delle ricerche, desideriamo ora riferire alcune notizie di patologia umana.

Abbiamo già avuto occasione di ricordare le ricerche di Wills (9) circa l'effetto terapeutico del lievito di birra in una particolare anemia gravida in India. Anche nelle anemie dell'a tenera infanzia, Pansone e coll. (30) avevano talvolta ottenuto buoni risultati con la somministrazione di lievito, se pur non costantemente. Negli anni seguenti vari AA. avevano osservato anemie per lo più con macrocitosi da riferire a carenze alimentari o quadri perniciososimili specie in gravidanza che non rispondevano o rispondevano molto male agli estratti epatici per via parenterale; mentre risentivano della terapia epatica per os (fegato in toto) sì da fare sorgere il sospetto che accanto al fattore o ai fattori presenti negli estratti epatici altri principi ad azione antianemica esistessero nel fegato.

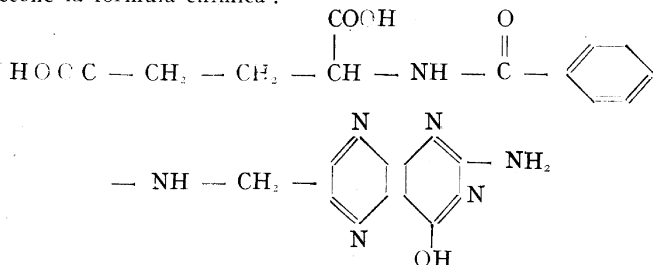
Wintrobe (31) negli anemici perniciosi aveva avuto buoni risultati terapeutici con la somministrazione di grandi quantità di lievito per os.

Nel 1943 Wright e Welch (23 bis) sperimentarono i primi concentrati di ac. folico ottenuti dallo spinacio o dal succo d'erba in malati affetti da anemia perniciosa, somministrandoli per os insieme a succo gastrico umano di soggetti normali, senza ottenere un risultato apprezzabile. Anche Sharp e coll. (32) somministrando dosi giornaliere di un concentrato di lievito contenente da 0,6 a 1,5 mgr. di vit. Bc a 10 pazienti con anemie che si erano mostrate refrattarie al fegato e al ferro, rilevavano assai scarse modificazioni del quadro ematico.

Anemie associate a carenza soprattutto del complesso B nell'uomo sono state studiate in particolare da Moore e coll. (33).

Le ricerche sull'uomo sono entrate in una nuova fase da quando, dopo una breve comunicazione nel luglio 1945, nell'agosto dello stesso anno Angier e 15 coll. (34), parte dei Laboratori Lederle e parte dell'American Cyanamid Company, annunciavano la sintesi di un composto identico al fattore LC isolato dal fegato, attivo sia nello stimolare la crescita del LC sia l'aumento in peso e la formazione dell'Hb nel pulcino. Nel maggio del corrente anno (1946) lo stesso gruppo di ricercatori rendeva nota la struttura e i metodi impiegati nella sintesi del fattore epatico di crescita per il LC o « Liver L. Casei Factor » (35).

Eccone la formula chimica:



Acido N-[4 { [(2amino-4-idrossi-6pteridil) metil] amino } benzoil] glutamico

In questa si possono distinguere tre gruppi principali, legati tra di loro:

- 1) un composto azotato con due anelli benzolici, una pteridina;
- 2) ac. para-aminobenzoico;
- 3) ac. glutamico.

Più precisamente la pteridina è legata in posizione 6 con l'amino gruppo dell'ac. para-aminobenzoico, che a sua volta è legato per mezzo del suo gruppo carbossilico al gruppo aminico dell'ac. glutamico.

Nella conferenza promossa dall'Ac. delle Scienze di New York il 29 maggio 1946 è stato proposto il nome di ac. pteroilglutamico.

La sua somministrazione a soggetti normali non provoca modificazioni del quadro ematico, la dose mortale varia da 125 a 600 mgr. pro Kg. a seconda della specie animale, cioè 500 - 5000 volte la dose terapeutica utile nell'uomo.

La casa Lederle lo ha già messo in commercio con il nome di *Folvite* tablets, Folic acid (L. Casel Factor) in tubetti da 25 compresse da 5 mgr. ciascuna (*).

In considerazione dei risultati ottenuti con l'ac. folico nelle scimmie Berry, Spies e Doan (36) usavano dapprima un concentrato di ac. folico ottenuto dal fegato e anche il fattore sintetico del LC in soggetti con deficienze multiple del complesso B e leucopenia senza notare modificazioni del quadro granulocitico.

Sul finire del 1945 Spies, Vilter, Koch e Caldwell (37) riferivano le prime osservazioni cliniche sull'impiego dell'ac. folico sintetico nel trattamento (5 casi) di anemie che gli AA. classificavano come macrocitiche. La somministrazione di questo preparato, sia per os sia per via parenterale, era seguita da una « dramatic haemopoietic response » simile a quella di un potente estratto epatico. Nel dicembre pure del 1945 Vilter, Spies e Koch (38) riconfermavano i loro risultati su una serie maggiore di casi (14c), dei quali 6 diagnosticati come anemia macrocitica alimentare, 5 come anemia perniziosa e 3 di tipo non determinato.

Poco dopo (gen. 1946) Spes, Menendez, Milanes, Koch e Minnich (39) rendevano noto che l'anemia macrocitica della sprue tropica a Cuba, rispondeva in analogo modo.

Nel dic. 1945 Moore e coll. (40) avevano riferito su 2 casi di anemia perniziosa addisoniana nei quali si era ottenuto remissione clinica e ematologica con la somministrazione orale per 10 giorni di 30-100 mgr. del fattore LC sintetico e su 2 altri casi (1 con sprue tropica e 1 con anemia perniciososimile in gravidanza) trattati con 20 mgr. endov. con identico risultato.

• Dopo una breve nota ancora nel 1945, Darby e coll. (41) nel gennaio 1946 in un lavoro comparso su *Science* riferivano su 3 casi tipici di sprue non tropica rapidamente venuti a guarigione con la somministra-

(*) Addendum: attualmente la Casa Lederle ha messo in commercio anche fiale da 1 cc. (per uso parenterale) contenenti 15 mgr. di ac. folico. Nel *Folyron* (recentissimi preparato pure Lederle) capsule, sono contenuti 1,7 mgr. di acido folico e 195 mgr. di solfato ferroso al fine di accoppiare i vantaggi della ferro terapia a quelli dell'ac. folico.

zione di 15 mgr. di fattore LC sintetico per via endomuscolare. Le caratteristiche dell'affezione prima della cura venivano così fissate: glossite, diarrea grassa, calo del peso, pigmentazione della cute, anemia macrocitica, leucopenia discreta, diminuzione dell'assorbimento degli zuccheri, carotinemia bassa, esame radiologico dell'intestino caratteristico.

Nel marzo 1946 su J.A.M.A. Darby e coll. (42) ritornavano sull'argomento e dalla somiglianza della sprue con il quadro da deficit di vit. M nelle scimmie erano indotti ad accostare le due affezioni sì da proporre per queste sostanze ad azione emopoietica nei primati il termine « gruppo della vit. M ».

In due articoli riassuntivi (43-44) comparsi nel febbraio 1946 Spies riportava 45 casi trattati con acido folico illustrando il concetto di anemia macrocitica e fissando i criteri di scelta dei pazienti sottoposti a terapia. Il paziente doveva presentare:

- 1) anemia macrocitica con un n. di emazie inferiore a milioni 2,5 e un valore globulare superiore all'unità;
- 2) non aver subito precedentemente trattamento di sorta o almeno a distanza tale da non infirmare i risultati della nuova terapia;
- 3) non assenza di complicanze tali da poter riuscire letali durante l'esperimento;
- 4) midollo con megaloblasti e « tipico arresto eritroblastico »;
- 5) steatorrea e calo di peso, se con sprue.

Di questi 45 pazienti « 41 presentavano anemia ipercromica macrocitica tipica » con i caratteri surriferiti e 4 invece anemia ferripriva con basso valore globulare.

A una attenta disamina il gruppo dei malati di Spies appare quanto mai eterogeneo, sia pure sotto il comun denominatore dell'anemia macrocitica. Infatti 8 casi sono rappresentati da anemici perniciosi (non ac. cloridrico libero nel succo gastrico, non pepsinogeno o rennina dopo stimolazione istaminica), 8 c. di anemia macrocitica alimentare (cioè quadro ematologico come nell'anemia perniciosa, ma presenza di ac. cloridrico libero nel succo gastrico insieme a pepsinogeno e rennina) 11 c. - di sprue con steatorrea, 3 c. di anemia perniciososimile in gravidanza, 1 c. id. in soggetto con carcinoma dello stomaco, 1 c. id. in alcoolista cronico con cirrosi epatica e neurite, 3 c. con anemia associata a leucemia, 3 c. da riportare a forma aplastica e 3 c. non chiari. Inoltre 7 pazienti presentavano segni indubbi di pellagra.

Alla terapia con acido folico risposero 26 malati e più precisamente: 5 casi di anemia macrocitica alimentare, 5 c. di anemia perniciosa addisoniana 8 c. di sprue, 3 con anemia macrocitica in gravidanza, 1 c. di anemia associato ad alcoolismo cronico, cirrosi ect., 1 caso di anemia in soggetto con carcinoma gastrico e i 3 c. poco chiari, non classificati.

Nessun risultato fu ottenuto nei 3 c. di anemia aplastica, nei 3 c. con leucemia e nei 4 c. con deficit di Ferro.

Le dosi impiegate sono state varie, fino a 400 mgr. al dì: Spies consiglia di attenersi a dosi di 20 mgr. sia per os sia per via parenterale.

Analoghi risultati più recenti sono segnalati in America da parte di Moore e coll., Goldsmith, Doan e coll., Vielter, alcuni dei quali non ancora pubblicati [v. rassegna di Berry e Spies (22)].

In Inghilterra nell'agosto 1946 Winkinson e coll. (45) hanno riferito sull'ottimo risultato avuto in 5 casi di anemia perniciosa addisoniana con la somministrazione giornaliera di 20-10 mgr. di ac. folico sintetico per bocca.

I criteri adottati dagli AA. per giudicare l'effetto della cura meritano di essere riferiti:

- 1) trasformazione del midollo da megaloblastico a normoblastico;
- 2) risposta reticolocitaria come per i preparati di fegato;
- 3) aumento duraturo del numero delle emazie e della Hb;
- 4) scomparsa dei sintomi clinici (l'acloridria permane).

Il mese dopo Davidson e Gridwood (46) hanno illustrato 6 nuovi casi di anemia perniciosa classica con midollo megaloblastico e acloridria istaminoresistente (senza segni neurologici e senza storia precedente di diarrea o carenze alimentari) nei quali con l'ac. folico sintetico si ebbe aumento notevole dei glob. rossi, della Hb, dei reticolociti e trasformazione del midollo da megaloblastico a normoblastico.

Inoltre in 3 casi di anemia megaloblastica cosiddetta refrattaria, nei quali un potente estratto di fegato per via parenterale era stato inefficace, gli AA. dopo trattamento con ac. folico notarono aumento dei reticolociti, del n. delle emazie, della Hb e trasformazione del midollo da megaloblastico a normoblastico, pur senza riuscire a portare i pazienti a un quadro ematologico del tutto normale.

Recentissimamente Wright e Amill (47) hanno reso noti altri 6 casi di anemia perniciosa trattati con ac. folico sintetico, nei quali dopo 4 settimane dall'inizio della cura il numero dei globuli rossi era aumentato quanto richiesto dai saggi della terapia epatica.

Peate e Branch (48) in un caso di anemia ipoplastica in una giovane donna con la somministrazione di ac. folico sintetico avrebbero notato diminuzione del numero delle trasfusioni periodicamente richieste dallo stato della paziente.

L'AC. FOLICO IN PEDIATRIA

Alle osservazioni sull'adulto seguivano nel marzo e nel maggio 1946 le prime notizie circa la terapia con ac. folico sintetico in particolari anemie dei bambini da parte di Zuelzer e Ogden (49).

Dal punto di vista clinico i pazienti così trattati presentavano frequente, ma non costante splenomegalia, spesso infezioni, una alimenta-

zione precedente scarsa, ma talvolta del tutto normale, sovente acloridria istaminoresistente, un quadro cioè quanto mai poco caratteristico. Non sarà quindi inutile riportare anche i criteri ematologici adottati dagli AA.:

1) anemia normocromica grave, di solito — ma non sempre — macrocitica;

2) tendenza alla leucopenia o neutropenia associata alla presenza di metamielociti giganti o così detti « macropoliciti » e neurofili ipersegmentati nel sangue periferico;

3) diminuzione delle piastrine, talora di alto grado e spesso associata con aumentata tendenza alle emorragie;

4) puntato midollare che « assomiglia e in alcuni casi è identico » al quadro della anemia pernicioso. L'eritropoiesi appare decisamente megaloblastica nei gradi avanzati della malattia, ma può presentare nei primi stadi un aspetto intermedio tra normo- e megaloblastica. Di notevole valore diagnostico è — sec. gli AA. — un precoce e costante reperto di granulociti abnormi giovani del tipo presente nell'a.p.

A 12 malati con tale sindrome vennero somministrate dosi da 5 a 20 mgr. di ac. folico sintetico al dì, per un periodo da 8 gg. a 3 settimane. Di questi 3 vennero a morte per gravi infezioni prima che potesse venir valutato l'effetto della terapia. Negli altri 9 venne notato rapido aumento dei reticolociti, ritorno del midollo al quadro normale, aumento durevole dell'Hb e dei globuli rossi senza altro trattamento antianemico. Non sono state dagli AA. osservate ricadute fino a 10 mesi dopo.

Secondo l'espressione di Zuelzer (50) « l'effetto dell'ac. folico non è distinguibile da quello degli estratti epatici ». La sua efficacia però sarebbe strettamente specifica nei casi con midollo megaloblastico, nulla essendo la sua azione nei casi con midollo normoblastico.

A conferma di ciò il risultato è stato negativo in 18 casi di anemia in prematuri, in 5 casi di a. microcitica ipocromica, in 1 caso di morbo di Cooley, 2 casi di anemia ipoplastica cronica, 1 caso di anemia aplastica, 1 caso di leucemia mieloida subacuta, 1 caso di leucemia linfatica acuta e 1 caso di anemia a cellule falciformi.

L'uso profilattico dell'ac. folico nei prematuri sembra quindi inutile e il suo uso combinato con il ferro non modifica l'azione di quest'ultimo, quando esiste una deficienza di ferro nell'organismo.

Recentissime sono le prime brevi comunicazioni di un benefico effetto dell'ac. folico nel morbo celiaco dei bambini (1 caso di Brody e Gore (51) (ott. 1946) e due casi di Dalton e coll. (52) (nov. 1946).

CONSIDERAZIONI E CONCLUSIONI

Quale funzione abbia e quale posto occupi l'ac. folico tra gli altri fattori emopoietici noti, è tuttora oggetto di discussione.

Data la sua azione per via parenterale non dovrebbe essere il fattore intrinseco di Castle, inoltre il fatto che essa si compia anche quando somministrato per os in assenza di succo gastrico normale, ha portato generalmente ad escludere si tratti del fattore estrinseco. (Spies (22). Tuttavia Moore e coll. (40) hanno mosso due importanti obiezioni a tale esclusione. **La prima**, riferendosi alla osservazione di Wintrobe (31) — come abbiamo già ricordato — circa l'effetto terapeutico del lievito somministrato in forti dosi per os in pazienti di a. p. tende ad accostare l'azione del fattore sintetico del LC per os a un meccanismo simile al lievito. La seconda, riferendosi al fatto che nessun preparato del fattore estrinseco è stato finora ottenuto in forma sufficientemente pura da permetterne l'uso per via parenterale, afferma la mancanza di un possibile confronto su quale potrebbe essere l'effetto del fattore estrinseco di Castle, introdotto per via endovenosa.

Circa la sua identità o meno con il fattore antipernicioso degli estratti di fegato, la quantità di ac. folico riscontrata con i saggi microbiologici nelle dosi terapeutiche di vari estratti epatici si è mostrata notevolmente inferiore, Clark (53) alla quantità di preparato sintetico richiesta per essere efficace. La questione rimane tuttora aperta per la possibile presenza di ac. folico allo stato potenziale negli estratti epatici e a una sua **eventuale liberazione nell'organismo** da parte di agenti non noti. E' stata così suggerita l'idea che l'ac. folico sia solo uno dei principi antianemici del fegato, dalla cui azione combinata risulterebbe l'efficacia terapeutica.

Davidson e Gridwood (46) dalla constatazione che a. megaloblastiche refrattarie agli estratti di fegato per via parenterale rispondevano — oltre che all'ac. folico — al proteolisato di fegato dato per os, sono stati indotti a pensare che l'ac. folico sia il principio attivo del proteolisato di fegato. Dalla osservazione poi che 2 loro casi di megaloblastica refrattaria avevano risposto al proteolisato di fegato dopo che l'ac. folico aveva cessato di essere attivo, hanno ammesso che nel fegato in toto o nel proteolisato di fegato debbano esistere altri principi antianemici ancora non noti.

Spies e coll. hanno incluso l'anemia perniciosa nel gruppo delle a. macrocitiche che rispondono all'ac. folico ad onta del fatto che la patogenesi nell'a.p. sia in certo modo differente da quella dell'a. macrocitica della sprue, gravidanza e pellagra e dall'a. macrocitica da carenze alimentari. Spies ha supposto che l'ac. folico possa essere sintetizzato dalla flora intestinale nell'organismo e così entrare a far parte di un complesso sistema enzimatico ad azione antiperniciosa. La sua « ipotesi di lavoro » è che sia probabile nell'anemico pernicioso una insufficiente liberazione da parte degli enzimi dell'organismo, mentre nei soggetti con **sprue, pellagra, gravidanza** etc. questa sostanza o sostanze simili possano essere meglio utilizzabili. Sempre sec. Spies l'ac. folico in forma coniugata potrebbe pure esser accumulato nell'organismo e l'estratto di fegato po-

trebbe contenere un principio capace di liberare da esso le sostanze attive sul midollo (22).

Spies e coll. (54) hanno anche osservato che la somministrazione di grandi dosi di timina (uno dei nucleotidi dell'ac. nucleotimico, isolato nel 1893 da Kassel e Neuman) fino a oltre 10 gr. al giorno per os per un periodo di 10-14 gg., in pazienti affetti da anemia perniciosa, è seguita da aumento dei gl. r., della Hb, da reticolocitosi, da trasformazione del midollo da megaloblastico a normoblastico in modo assai simile a quello dei pazienti trattati con estratti epatici o con acido folico. Tale sostituzione è basata sull'osservazione di Stokstad (55) che la timina può sostituire l'ac. folico quale fattore di crescita per i batteri dell'ac. lattico **in presenza di altre sostanze essenziali come l'adenina.**

Secondo Stokes (56) occorrerebbe una quantità di timina 5.000 volte superiore a quella dell'ac. folico. Questo A. suppone che l'ac. folico agisca quale enzima o coenzima nella sintesi della timina o di composti timinosimili e che questi appunto vengano usati dall'organismo nella fabbricazione dell'ac. nucleico.

Come appare da quanto abbiamo riferito l'ac. folico — tale è il nome più comunemente usato — è venuto man mano affermandosi nella pratica terapeutica, pur non essendo ancora del tutto note le sue proprietà, specie **in confronto degli estratti epatici.** Per quanto il momento sperimentale possa dirsi superato, non è certo se la sua efficacia sia tale da impedire le ricadute e da prevenire le manifestazioni nervose dell'anemia perniciosa. La sua somministrazione appare sicuramente indicata, almeno per periodi limitati, nei pazienti con ipersensibilità o intolleranza agli estratti epatici e in quelle anemie macrocitiche ipercromiche con trasformazione megaloblastica del midollo che costituiscono per certi aspetti un capitolo ancora oscuro della ematologia, al quale la terapia con ac. folico potrebbe portare qualche luce. Campo promettente di studi sembrano essere pure alcune **anemie infantili e il morbo celiaco del bambino.**

Dall'inizio della terapia epatica per merito di Minot sono passati ormai 20 anni, un anno appena dalle prime comunicazioni di Spies sull'acido folico. Altri controlli e altre ricerche dovranno consentire di **giudicare definitivamente dell'utilità di questa nuova arma nella lotta contro le sofferenze umane.**

BIBLIOGRAFIA

Di grande utilità ci è stata nella presente compilazione, l'ampia rassegna di Berry e Spies (22) comparsa nel luglio 1946, su *Blood*. Così pure gli articoli di Anonimus su *Nutrition Reviews* nel 1946, vol. 4, pp. 11, 13, 15, 102, 153, 199, e le riviste sintetiche annualmente pubblicate da *Ann. Review of Biochemistry*, vol. 12, 305, 1943, vol. 13, 385, 1944, vol. 14, 469, 1945.

Segnaliamo ancora gli editoriali comparsi in aprile 1946 su *J.A.M.A.*, vol. 130, 1224 su *Lancet* nel giugno I. 927, 969, e quello recentissimo su *Ann. Int. Med.*, vol. 25, 534, 1946 sett.

- (1) Orla-Jensen S. e coll., *Zbl. f. Bakt. II Abt.*, 94, 434; 1936.
- (2) Snell E. E. e Peterson W. H., *J. Bact.* 39, 273; 1940.
- (3) Mitchell H. K. e coll., *cit. Berry e Spies* (22).
- (4) Mitchell H. K. e Snell E. E., *cit. id.* (22).
- (5) Landy M. e Dickens D. M., *J. Lab. & Clin. Med.*, 27, 1086; 1942.
- (6) Keresztesy J. C. e coll., *Science*, 97, 465; 1943.
- (7) Mims V. e coll., *J. Biol. Chem.*, 155, 401; 1944.
- (8) Laskowski M. e coll., *J. Biol. Chem.*, 157, 731; 1945.
- (9) Wills L., *Brit. Med. J.*, 1, 1059; 1931.
- (10) Wills L. e Bilimoria H. S., *Indian J. M. Research*, 20, 391; 1932.
- (11) Day P. L. e coll., *J. Nutrition*, 9, 637; 1935.
- (12) Langston W. C. e coll., *J. Exp. Med.*, 68, 923; 1938.
- (13) Waisman H. A. e Elvehjem C. A., *J. Nutrition*, 26, 361; 1943.
- (14) Totter J. R. e coll., *cit.* (22).
- (15) Day P. L. e coll., *J. Biol. Chem.*, 157, 423; 1945.
- (16) Hogan A. G. e Parrott E. M., *J. Biol. Chem.*, 128, 46; 1939.
- (17) Pflüger J. J. e coll., *Science*, 97, 404; 1943.
- (18) Mills R. C. e coll., *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 49, 186; 1942.
- (19) Pflüger J. J. e coll., *Science*, 100, 36; 1944.
- (20) Brinkley S. B., Pflüger J. J. etc., *Science*, 102, 228; 1946.
- (21) Parsons L. G. e coll., *Arch. Dis. Childh.*, 8, 95; 1933.
- (22) Berry L. J. e Spies T. D., *Blood*, 1, 271; 1946.
- (23) Welch A. D. e Wright L. D., *J. Nutrition*, 25, 55; 1943.
- (23-bis) Wright L. D. e Welch A. D., *Science*, 98, 179; 1943.
- (24) Nielson E. e Elvehjem C. A., *J. Biol. Chem.*, 145, 713; 1942.
- (25) Kornberg A. e coll., *Am. J. Physiol.*, 142, 604; 1944.
- (26) Mallory M. E. e coll., *J. Biol. Chem.*, 156, 317; 1944.
- (27) Kornberg A. e coll., *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 58, 46; 1945.
- (28) Woolley D. W., *J. Biol. Chem.*, 143, 679; 1942.
- (29) Woolley D. W. e Springe H. J., *J. Biol. Chem.*, 153, 687; 1944.
- (30) Parsons L. G. e coll., *Arch. Dis. Childh.*, 8, 227; 1933.
- (31) Wintrobe M., *Am. J. Med. Sc.*, 197, 286; 1939.
- (32) Sharp E. A. e coll., *J.A.M.A.*, 124, 734; 1944.
- (33) Moore C. V. e coll., *J. Lab. & Clin. Med.*, 29, 1226; 1944.
- (34) Angier B. R. e coll., *Science*, 102, 227; 1945.
- (35) Angier B. R. e coll., *Science*, 103, 667; 1946.
- (36) Berry L. J. e coll., *cit.* (22).
- (37) Spies T. D. e coll., *cit.* (22).
- (38) Vilter C. F. e coll., *cit.* (22).
- (39) Spies T. D. e coll., *cit.* (22).
- (40) Moore C. V. e coll., *J. Lab. & Clin. Med.*, 30, 1056; 1945.
- (41) Darby W. J. e coll., *Science*, 103, 108; 1946.
- (42) Darby W. J. e coll., *J.A.M.A.*, 130, 780; 1946.
- (43) Spies T. D., *J.A.M.A.*, 130, 474; 1946.
- (44) Spies T. D., *Lancet* I, 225; 1946.
- (45) Wilkinson J. F. e coll., *Lancet* II, 156; 1946.
- (46) Davidson L. S. P. e Gridwood R. H., *Lancet* II, 373; 1946.
- (47) Wright M. e Amill L. A., *J.A.M.A.*, 131, 1201; 1946.
- (48) Peate G. B. e Branch A., *Canad. Med. Ass.*, J. 55, 287; 1946.
- (49) Zuelzer W. W. e Ogden F. N., *Am. J. Dis. Childh.*, 71, 211; 1946.
- (50) Zuelzer W. W., *J.A.M.A.*, 131, 7; 1946.
- (51) Brody H. P. e Gore L., *Lancet* II, 618; 1946.
- (52) Dalton H. W. e coll., *Lancet* II, 652; 1946.
- (53) Clark G. W., *Am. J. Med. Sc.*, 209, 520; 1945.
- (54) Spies T. D. e coll., *Blood*, 1, 185; 1946.
- (55) Stokstad E. L. R., *J. Biol. Chem.*, 139, 475; 1941.
- (56) Stakes J. L., *J. Bact.*, 48, 201; 1944.

354753

