

29. Piero CATTANEO ed Aurelio MARIANI — I tocoferoli nella fisiologia ostetrica.

**Riassunto.** — Seguendo il metodo colorimetrico di Emmerie ed Engel ed effettuando misure spettrofotometriche al Beckman sono state eseguite numerose determinazioni di vitamina E nel sangue di donne in gravidanza, durante il parto ed in puerperio; nel sangue del tralcio placentare del funicolo subito dopo il parto; nella secrezione lattea nei vari periodi di allattamento.

Dai dati ottenuti si conferma il rapido aumento della tocoferolemia prima del parto e la diminuzione dopo il parto: si fissa il rapporto fra tocoferolemia materna e fetale, si riscontra un forte accumulo di vitamina E nel colostro e nel primo latte per cui se ne deduce che la vitamina E viene in gran parte arrestata dalla barriera placentare mentre viene somministrata al nato per via orale.

Si avanza l'ipotesi che, con molta probabilità, la vitamina E deve essere di aiuto per il neonato nell'assorbimento di altre sostanze soprattutto nel periodo dell'inizio dei fenomeni digestivi.

**Résumé.** — Appliquant la méthode colorimétrique d'Emmerie et Engel et faisant des mesures spectrophotométriques par l'appareil Beckman, on a effectué de nombreux dosages de vitamine E dans le sang des femmes enceintes pendant et après l'accouchement; dans le sang de la partie placentaire du cordon aussitôt après l'accouchement; dans la sécrétion lactée pendant les diverses périodes de l'allaitement.

Les données obtenues par ces mesures confirment le rapide accroissement de la tocophérolémie avant l'accouchement et sa diminution après l'accouchement: on fixe le rapport entre la tocophérolémie maternelle et la fœtale; on constate une forte accumulation de vitamine E dans le colostrum et dans le premier lait, d'où l'on peut déduire que la vitamine E est en grande partie arrêtée par la barrière placentaire tandis qu'elle est administrée à l'enfant par voie buccale.

On avance l'hypothèse que la vitamine E, selon toute probabilité, doit aider le nouveau-né dans l'absorption d'autres substances, surtout dans la période où commencent à se manifester les phénomènes digestifs.

**Summary.** — Numerous determinations of Vitamin E were made in the blood of the pregnant woman, during the partusry and in the postpartal period, in the blood of the remaining of the placental funiculus immediately after the partus and in the milk secretion during different period of lactation.

The colorimetric method of Emmerie and Engel was used for the estimation of vitamin E; spectrophotometric measurements were made with the Beckman spectrophotometer. The data obtained confirmed the rapid increase of tocopherolaemia before the partus and its decrease after partus.

The relationship between the level of tocopherol in maternal and foetal blood was investigated. A strong concentration of tocopherol was found in the colostrum and the first milk secretion, and on the basis of these findings it was concluded that the Vitamin E is largely arrested by the placental barrier and is administered to the born child by oral route.

The hypothesis is advanced that in all probability the function of Vitamin E in the new-born is to facilitate the absorption of other substances, particularly during the period of the beginning of digestive phenomena.

**Zusammenfassung.** — Bei Anwendung der kolorimetrischen Methode von Emmerie und Engel und mittels spektrophotometrischen Messungen mit dem Beckman sind zahlreiche Bestimmungen des E-Vitamins im Blut schwangerer Frauen während der Entbindung und des Kindbetts gemacht worden, und zwar im Blut der Plazentare teil der Nabelschuur gleich nach der Entbindung, in der Milchabsonderung während der verschiedenen Stillungsperioden.

Nach den erhaltenen Daten, wird das rasche Ansteige der Tocopherolemie vor der Entbindung und die Verminderung nach der Entbindung bestätigt: Es wird das Verhältniss zwischen Mutter und Fötal - Tokopherolemie bestimmt, es wurden eine starke Anhäufung von E-Vitamin im Colostrum und in der ersten Milch beobachtet woraus man schliesst dass das E-Vitamin zum Grossteil von der Plazent barriere aufgehalten wird, während es dem Neugeborenen peroral eingegeben wird.

Es wird angenommen, dass mit grosser Wahrscheinlichkeit das E-Vitamin dem Neugeborenen bei der Absorbierung anderer Substanzen, besonders in der Periode der beginnenden Verdauungstätigkeit behilflich sei.

---

In un interessante lavoro sulla vitamina E apparso nel 1946 per opera del RUNTI (1) si leggono nella parte introduttiva le seguenti parole « Sembrerà strano che ancora oggi, a circa 24 anni dalla scoperta del cosiddetto fattore X (che veniva ben presto battezzato vitamina E, in omaggio alla sequenza alfabetica proposta per le vitamine da Mac Collum), si possa ancora discutere di un problema della vitamina E ».

La realtà invece è proprio questa anche nel 1949 ed in più si nota che man mano che ci si allontana dalla scoperta aumentano i dubbi non solo

sulla funzione, ma perfino sulla natura vitaminica del fattore E, chimicamente identificato sotto forma di alfa, beta, gamma-tocoferolo.

Alla base di tutte le nostre incertezze in questo campo stà lo strano comportamento di questa sostanza che, mentre nei ratti svolge un'azione specifica classificabile tra le azioni vitaminiche, altrettanto non fa nella specie umana.

E' noto infatti che non esiste nell'uomo un'avitaminosi E, e che tutti i tentativi terapeutici fatti in casi di presunta ipovitaminosi hanno il loro pro e contro. Perfino la efficacia nella terapia delle malattie del miocardio e della miastenia, che in un primo tempo aveva destato l'entusiasmo di parecchi clinici, attualmente è messa in dubbio ed ancor più si è scettici oggi di sull'azione terapeutica della vitamina E nella minaccia d'aborto e nell'aborto ripetuto, date le molteplici osservazioni cliniche di gravidanze normali seguite ad aborti senza bisogno di speciali cure ed il completo fallimento del tentativo terapeutico dell'aborto ripetuto, non dipendente da fattori locali o generali conosciuti. (2)

Manca perciò, nonostante che si sappia molto sulla chimica dei tocoferoli e circa gli effetti della loro carenza sugli organismi di vari animali, una prova evidente che essi siano necessari anche per determinate funzioni dell'organismo umano e non potendosi agire altrimenti per cercare di decifrare questo problema, si cerca ora di approfittare degli sviluppi presi dalla tecnica colorimetrica per arrivare a svelare la presenza e conoscere la distribuzione della vitamina E nei fluidi organici e nei tessuti e potere quindi ottenere qualche indicazione sullo scopo fisiologico precipuo di questa sostanza.

Sebbene le prime ricerche in questo campo non siano state molto convincenti per il fatto che i metodi usati dai singoli AA. erano ancora imperfette ed il cumulo di errori di tecnica e di valutazione — molto spesso dovuti alla soggettiva interpretazione dell'intensità cromatica al colorimetro — portarono spesso a risultati discordanti fortemente da ricerca a ricerca, attualmente, dopo il perfezionamento del metodo chimico di estrazione e l'introduzione dell'uso dei colorimetri a cellula foto-elettrica, che eliminano l'errore dovuto all'imprecisione dell'occhio umano, si è propensi a ritenere che la determinazione quantitativa dei tocoferoli nei materiali organici sia l'unico metodo per arrivare a conoscere il destino e la funzione di queste sostanze nell'uomo sano ed ammalato.

Di particolare interesse per raggiungere questo scopo sono le ricerche nel campo ostetrico ed è nell'ordine di questo concetto che ci siamo accinti alle ricerche di cui daremo notizia.

I lavori precedenti al nostro riguardanti la determinazione qualitativa e quantitativa della vitamina E nei materiali organici provenienti da don-

ne grávide, a quanto ci risulta da un'accurata ricerca bibliografica, sono pochi.

Le prime osservazioni sui tessuti umani che possono servire come orientamento sono state fatte da EVANS e BURR (3), i quali usando il loro metodo biologico originale hanno trovato che la placenta, conteneva modesta quantità di vitamina E.

Una ricerca analoga è stata fatta anche da ROBERTO (4), che somministrò a ratti in avitaminosi E del siero di sangue di gravida riuscendo a dimostrare che esso anche in piccole quantità consentiva una buona riproduzione degli animali: da ciò l'A. dedusse che il siero di sangue della donna fecondata conteneva questa vitamina.

Nei tempi più recenti l'applicazione dei metodi chimici colorimetrici e fluorimetrici hanno reso possibile le prime determinazioni quantitative dei tocoferoli con i quali si identifica la vitamina E.

In uno dei primi lavori apparsi sull'argomento il VARANGOT (5), afferma di aver trovato che il contenuto in tocoferoli nel sangue aumenta durante il corso della gravidanza. Le cifre che l'A. dà esprimono un valore medio di 1250 gamma % per i primi tre mesi di gravidanza, di 1650 gamma % dal quarto al sesto mese e di 1820 gamma % dal settimo mese al termine della gestazione, mentre il contenuto medio in tocoferoli nel sangue delle donne non incinte sarebbe in media di 1340 gamma %. L'anno seguente però con un metodo diverso e cioè purificando l'estratto del siero attraverso una colonna di argilla speciale (jagolite) lo stesso Varangot in collaborazione con CHAILLY e RIEUX (6) giunge a dei risultati assai diversi: infatti viene dato come valore medio normale 200 gamma %.

Successivamente RAURAMO (7), usando il metodo colorimetrico di KOFER (8), dà come valore medio per donne non incinte 342 gamma % e due anni dopo (1946), usando il metodo colorimetrico di EMMERIE ed ENGEL (9), lo stesso A. (10), dopo aver determinato il contenuto in tocoferoli nel siero di 65 individui sani di cui 12 uomini e 53 donne non gravide, dà come valori medi gamma  $512 \pm 22$  per le donne e gamma  $416 \pm 31$  per gli uomini.

Nelle donne incinte Rauramo nel 1944 con il metodo di Kofler ha trovato nell'ultima fase della gravidanza un contenuto medio di 633 gamma % (risultato pressochè confermato l'anno dopo dall'ABDERHALDEN (11) che con lo stesso procedimento in analoghe circostanze trovò un valore medio di 662 gamma %) e nel 1946 col metodo colorimetrico trovò al termine della gravidanza un quantitativo medio di 1131 gamma % su 32 soggetti esaminati. Questa crescita del contenuto in tocoferoli risulta progressiva nel senso che essa aumenta dal principio sino al termine della gravidanza. Nella puerpera recente, il livello in tocoferolo scende lentamente e dopo sette giorni dal

parto l'A. trovò ancora una media di 992 gamma %, mentre durante il secondo mese dell'allattamento il livello tende a portarsi alla norma.

Interessanti sono i rilievi fatti sul colostro e sul latte dove risultano dei valori elevatissimi oscillanti da 1000 a 1480 gamma per i primi quattro giorni e dei valori molto bassi 25 giorni dopo. (gamma 300 %).

Risultati simili ottennero, con lo stesso metodo di EMMERIE ed ENGEL, STRAUMFJORD e QUAlFE <sup>(12)</sup> i quali determinarono il quantitativo dei tocoferoli contenuti nel plasma di 23 donne nei vari stadi di gravidanza, che risultò in continuo aumento dal principio al termine della gravidanza ed avente i seguenti valori medi: in undici gravide nelle prime 24 settimane 1170 gamma % in dieci donne, tra la venticinquesima e la 36esima settimana di gravidanza, un livello medio nettamente più elevato e precisamente di 1620 gamma %.

Per controllo con lo stesso metodo furono esaminati dei soggetti normali di diverse regioni ottenendo dei valori medi 1050, 1040 gamma %. Inoltre gli AA. hanno esteso la ricerca alle madri ed ai neonati prelevando il sangue alle partorienti e dal tralcio placentare del cordone ombelicale: le ricerche furono eseguite su un gruppo di 54 puerpere ed essendovi stati due parti gemellari su 56 neonati.

Il contenuto medio del sangue materno fu trovato di 1700 gamma con una deviazione standard di 0,30 e quello dei neonati di 340 gamma con una deviazione standard di 0,12.

ATHANASSIU, che in un primo lavoro <sup>(13)</sup> si era occupato del contenuto in vitamina E nella minaccia d'aborto dimostrando una diminuzione del tasso sanguigno in tali circostanze, in un secondo lavoro <sup>(14)</sup> ha invece tentato di determinare sempre col metodo di Emmerie ed Engel, il quantitativo di vitamina E del sangue della madre confrontandolo con quello del neonato. A differenza però di Straumfjord e Quaife, Athanassiu si è preoccupato di prelevare separatamente il sangue dall'arteria del cordone ombelicale e il sangue della vena, ed inoltre ha determinato il contenuto placentare. I risultati che questo A. avrebbe ottenuto (in soli sei casi), sono sorprendenti quanto poco credibili.

Egli infatti riferisce di aver trovato i seguenti valori medi: madre 1326 gamma %, sangue arterioso del funicolo 441 gamma %, sangue venoso del funicolo 1670 gamma %, placenta 766 gamma %.

Da questi risultati l'A. trae deduzione logica che il fabbisogno del feto di vitamina E è molto alto e che quindi la vitamina E è di somma importanza per lo sviluppo e l'accrescimento del feto, il che messo in correlazione con i dati ottenuti sugli animali nelle esperienze di EVANS <sup>(15)</sup>, i quali videro verificarsi paralisi del treno posteriore in ratti lattanti, nati da madri tenute a dieta tanto povera di vitamina E da ridurre ad esaurimento le na-

turali scorte possedute dall'organismo, sembrerebbe dare una spiegazione del fabbisogno e dell'utilizzazione dei tocoferoli da parte del feto, senonchè i risultati ottenuti da ATHANASSIU (<sup>14</sup>) non hanno trovato conferma nè nelle ricerche di quelli che l'hanno preceduto, nè di quelli che l'hanno seguito, noi compresi.

Sempre nel caso ostetrico troviamo, secondo l'ordine cronologico, altri lavori sul contenuto in tocoferoli del colostro e del latte. Tra questi uno dovuto ad ABDERHALDEN (<sup>16</sup>) il quale trovò che il latte umano contiene durante le prime 2-3 settimane da 2600 a 3300 gamma di tocoferolo, mentre il contenuto medio nel periodo che va dalla 4. alla 10. settimana è solo di 940 gamma % ed il latte privo del grasso è praticamente privo di vitamina.

Un lavoro un poco più completo sul latte è quello di NEUWEILER (<sup>17</sup>) apparso poco dopo il precedente. Questo A. ha potuto constatare che il latte muliebri contiene nella media un notevole quantitativo di vitamina E; che il tasso di tocoferoli, pur non essendo in dipendenza dal contenuto in grasso del latte, varia notevolmente da soggetto a soggetto, e, nello stesso soggetto, subisce variazioni nelle diverse ore della giornata (differenza tra sera e mattina) ed inoltre esiste un divario tra il contenuto del latte prima e dopo la poppata. La quantità massima trovata nel latte raggiunge i 2900 gamma % e la quantità minima 250 gamma %.

Ed infine avvi la pubblicazione di KASER (<sup>18</sup>) nella quale si riferiscono i risultati della determinazione della tocoferolemia ottenuti da un'indagine estesa a 48 gravide normali, 8 puerpere e 28 donne che avevano abortito di recente tra il 2° ed il 5° mese.

In 14 gravide normali nella prima metà della gravidanza il valore del tocoferolo serico trovato variava da un minimo di 320 ad un massimo di 960 gamma %; in 26 gestanti nella 2. metà della gravidanza, i valori andavano da 540 a 1860 gamma % con una media di 1120 gamma %. Nelle 28 donne che avevano abortito tra il 2. e il 5. mese il tasso tocoferolico non si è mai dimostrato inferiore ai controlli e in nessun caso esso scendeva al disotto di 400 gamma %, valore che l'A. pone come limite inferiore dei casi fisiologici. In base a ciò il Kaiser crede di poter affermare, contrariamente a quanto aveva asserito l'Athanassiu (<sup>13</sup>), che nell'aborto non è dimostrabile un abbassamento del contenuto di tocoferoli nel siero di sangue.

#### PARTE SPERIMENTALE:

Abbiamo eseguito queste ricerche con il metodo di Emmerie ed Engel modificato da RAURAMO (<sup>10</sup>).

Nella scelta del metodo e nel modo con il quale le esperienze sono state eseguite si è cercato di essere il più possibile fedeli alla tecnica proposta dal-

l'A. finlandese sia per avvalorare la nostra ricerca di controllo, sia perchè il metodo presentato si è dimostrato ottimo sin dalle prime prove.

Le analisi eseguite, riportate nel lavoro, assommano complessivamente a 73, oltre ad altre numerosissime prove eseguite per controllo del metodo analitico: esse hanno richiesto larghezza di mezzi ed un'attrezzatura tecnica di prim'ordine e sono state eseguite nel Laboratorio di Biologia dell'Istituto Superiore di Sanità, su materiali prelevati a degenti nella Clinica Ostetrica e Ginecologica.

In particolare sono stati esaminati 53 campioni di sangue di donne, di cui tre appartenenti a donne non gravide, 23 a donne nei vari periodi di gravidanza, 10 a partorienti, 7 a puerpere 10 provenienti dal tralcio placentare del funicolo e 20 campioni tra colostro e latte.

Il metodo di determinazione dei tocoferoli di Emmerie che noi abbiamo usato e del quale daremo appresso dettagliata descrizione, è quello che ha subito alcune modifiche, specialmente per renderlo più specifico ed applicabile anche in presenza di piccoli quantitativi e quindi più adatto per l'analisi dei liquidi biologici quali il sangue ed il latte, dove si tratta di isolare la frazione liposolubile con ripetute estrazioni con etere di petrolio dopo aver precipitato le proteine con alcool assoluto. Sul liquido eterico, lavato con potassa, acido solforico ed acqua, si esegue la determinazione dei tocoferoli per via colorimetrica con il reattivo di Emmerie all'alfa, alfa'-dipiridile operando al riparo della luce.

Poichè però anche i carotinoidi si comportano ugualmente rispetto al reattivo, è necessario o effettuare la separazione cromatografica con terra Floridin o, più semplicemente, effettuare una doppia determinazione prima e dopo acetilazione. Con tale sistema si viene a bloccare il potere riducente della vitamina E e non quello dei carotinoidi per cui si ha una misura della quantità di tali sostanze presenti, misura che permette, sottratta dai valori totali, di ricavare i tocoferoli presenti nel liquido in esame.

Per la misura colorimetrica ci si è serviti finora di colorimetri a comparazione ottica tipo Pulfrich e per semplificare il metodo viene consigliato di porre nella vaschetta di riferimento il campione dopo acetilazione ed effettuare rispetto a questa la lettura dell'assorbimento sul campione che non ha subito acetilazione.

Nel caso del fotometro di Pulfrich viene consigliato di eseguire le letture con un filtro verde chiaro S 50 e servirsi, per effettuare il calcolo o di una retta tracciata impiegando quantitativi noti di alfatocoferolo puro sintetico, o della semplice relazione  $E \frac{1\%}{1 \text{ cm.}} = 357$ .

Per poter eseguire le determinazioni di vitamina E nel sangue o nel latte e non essere costretti alcune volte a lavorare, specie nel caso del san-

gue, su quantitativi troppo elevati, è necessario far uso di microvaschette adattabili al fotometro le quali permettono, impiegando solo 2 cm.<sup>3</sup> di liquido, di effettuare le letture su 5 cm. di strato. Anche però in questo caso si è sempre dipendenti da una valutazione soggettiva dovendo fare le letture per comparazione visiva.

Avendo a nostra disposizione uno spettrofotometro di Beckman abbiamo effettuato le letture colorimetriche con tale apparecchio ricavandoci prima la curva di assorbimento del composto colorato ferro-dipiridile per azione della vitamina E in modo da poter scegliere la lunghezza d'onda più adatta alle misure.

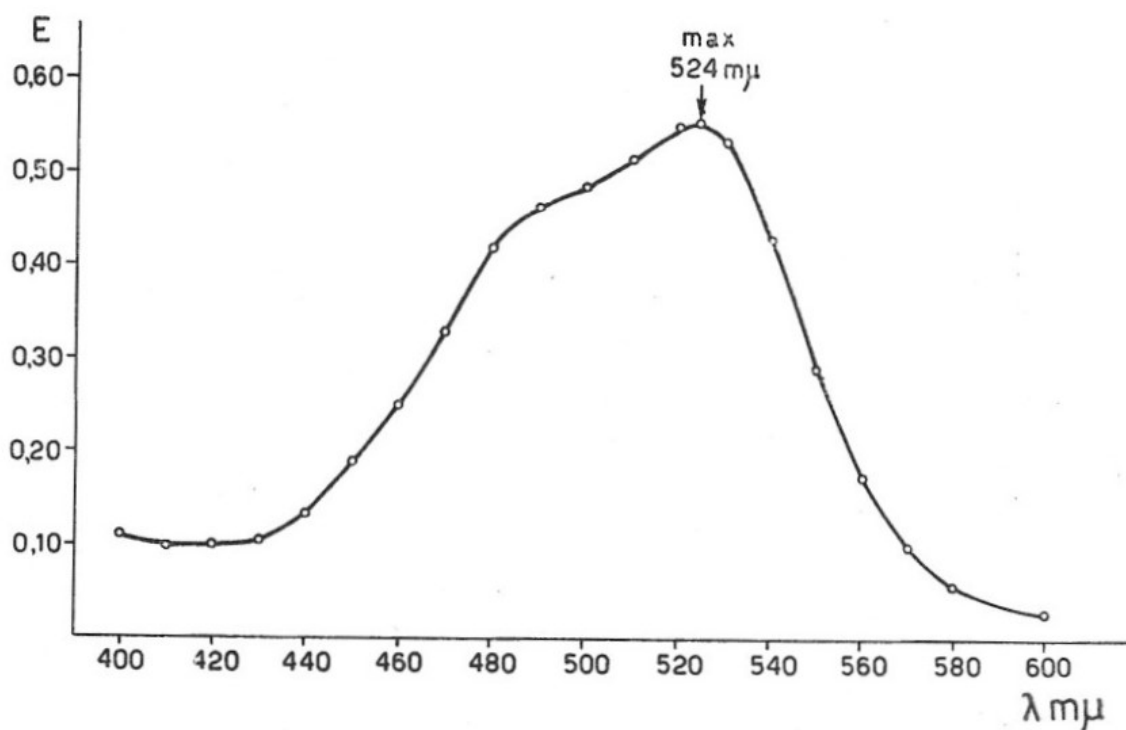


Fig. 1.

Come si rileva dal grafico riportato in fig. 1 il complesso colorato presenta un massimo netto a 524 mμ per cui, effettuando le misure colorimetriche a questa lunghezza d'onda, abbiamo ottenuto maggiore precisione e sensibilità, precisione e sensibilità sono poi grandemente aumentate con l'impiego dello spettrofotometro a cellula fotoelettrica che elimina completamente gli errori soggettivi di lettura.

Per il calcolo della vitamina E presente dall'estinzione riscontrata a 524 mμ è stata costruita una curva servendosi di di-alfa-tocoferolo sintetico Roche. I punti, come si vede nella figura 2, giacciono perfettamente su di una retta, il che corrisponde alla validità della legge di Beer almeno fino a una concentrazione di 40 gamma per cm.<sup>3</sup> di alfa-tocoferolo. Per questa ragione nei calcoli può essere usato il valore fisso ricavato per l'E  $\frac{1\%}{1 \text{ cm.}}$  a 524 mμ = 338.

Il metodo analitico da noi eseguito per la determinazione dei tocoferoli nei liquidi biologici (sangue e latte) è, nei suoi dettagli, il seguente:

5 cm.<sup>3</sup> di latte o di siero non emolizzato vengono posti in un imbuto separatore e trattati con egual volume di alcool assoluto; dopo 5 minuti vi

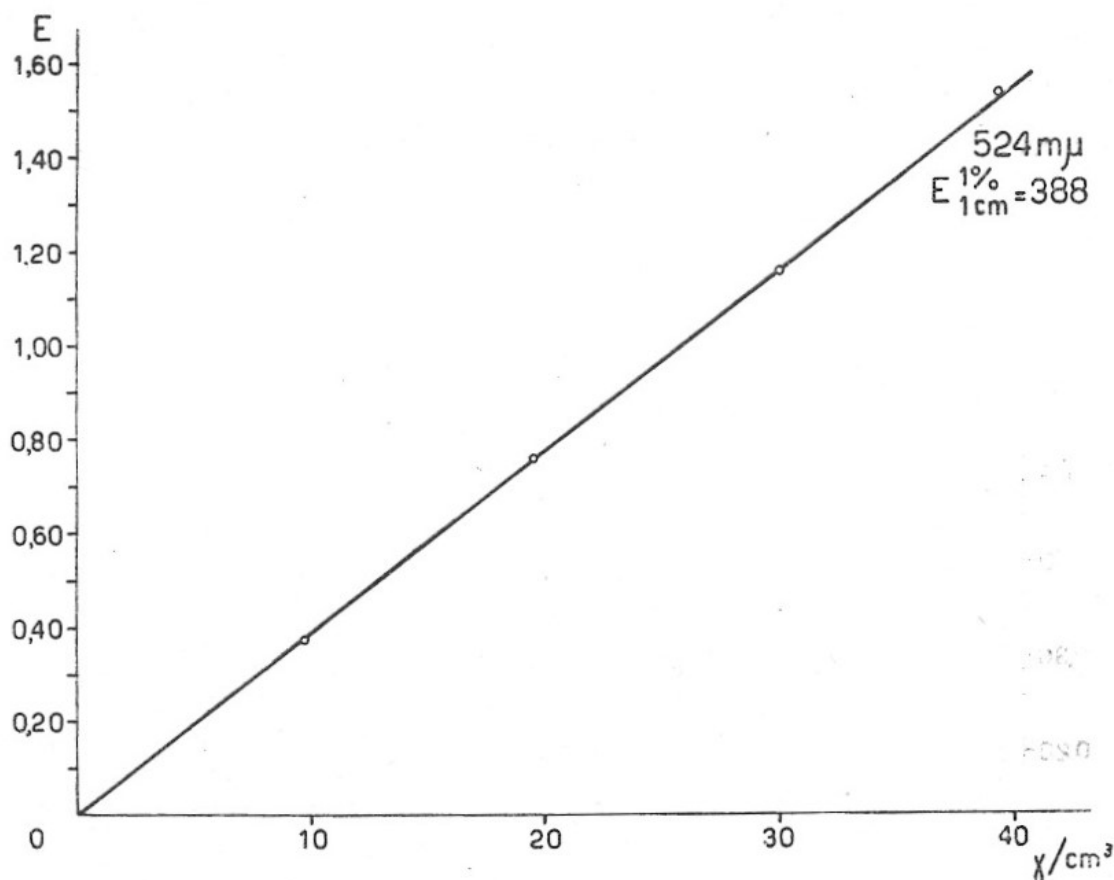


Fig. 2.

si aggiungono 10 cm.<sup>3</sup> di etere di petrolio e si dibatte per 2 minuti; a separazione avvenuta si fa scolare la parte acquosa in un altro separatore contenente altri 10 cm<sup>3</sup> di etere di petrolio e si ripete lo sbattimento. Lo strato eterico viene aspirato con una pipetta ed unito al primo liquido di estrazione.

Si ripete una terza estrazione con 20 cm<sup>3</sup> di etere di petrolio, si getta via il liquido acquoso e si riuniscono le frazioni eteriche. Queste vengono lavate con 15 cm<sup>3</sup> di acqua, poi con KOH a 1% con H<sub>2</sub> SO<sub>4</sub> 1% ed infine due volte con acqua ponendo attenzione che non si formino, specie in ambiente alcalino, delle emulsioni.

Il liquido eterico, contenente la parte liposolubile, viene filtrato in un palloncino da 50 cm<sup>3</sup> ponendo sul filtro 1 o 2 g di solfato di sodio calcinato. Lavando il filtro e il separatore con altro etere di petrolio si porta poi al segno. 25 cm<sup>3</sup> di tale soluzione vengono evaporati in grosso tubo di vetro immerso in b.m. a 75°C facilitando l'operazione con una corrente di azoto puro. Si evaporano poi i rimanenti 25 cm.<sup>3</sup> in un altro tubo e sul residuo si opera l'acetilazione aggiungendo 0,2 cm<sup>3</sup> di piridina, 0,2 cm<sup>3</sup> di anidride

acetica e riscaldando a b.m. per 15 minuti. Effettuata l'acetilazione, servendosi sempre di una corrente di azoto e poche gocce di etere di petrolio, si evapora di nuovo sino a non sentire più l'odore di piridina.

Ad ambedue i tubi contenenti uno il residuo naturale e l'altro il residuo acetilato vengono aggiunti 4 cm<sup>3</sup> di reattivo di Emmerie (5 cm<sup>3</sup> di benzolo, 1 cm<sup>3</sup> di cloruro ferrico al 0,2% in alcool e portati a 25 cm<sup>3</sup> con alcool assoluto). Si lasciano i tubi al riparo della luce per 10 minuti agitandoli frequentemente e si effettua la misura dell'assorbimento a 524 mμ ponendo nella vaschetta di confronto il liquido del tubo dove si è effettuata la acetilazione.

Per il calcolo, serve la formula:

$$\frac{E \times 1000 \times 40}{388 \times 25} = \text{mg tocoferoli in } 100 \text{ cm}^3$$

#### CONTENUTO IN TOCOFEROLO NEL SANGUE DI GIOVANI DONNE NON GRAVIDE.

Abbiamo determinato per controllo, prima di provvedere all'esame dei campioni di sangue di soggetti d'interesse ostetrico, il contenuto in tocoferolo di alcune giovani donne, ottenendo un risultato medio di 903 gamma % (Tabella 1).

Le cifre ottenute sono superiori a quelle che ABDERHALDEN <sup>(11)</sup> e RAU-  
RAMO <sup>(10)</sup> danno come media del normale e ciò potrebbe esser messo in relazione sia a fattori stagionali (VARANGOT) <sup>(5)</sup>, sia a fattori razziali, climatici e di alimentazione essendo evidente che le popolazioni dell'Italia centrale a qualunque stato sociale appartengano, hanno la possibilità di ingerire maggiori quantitativi di vitamina E che non le popolazioni nordiche.

TABELLA 1

#### CONTENUTO IN TOCOFEROLO NEL SANGUE DI DONNA GIOVANE NON GRAVIDA

| Numero d'ord. | Cognome e nome | Età | Condizione        | Para      | Contenuto in tocoferolo nel sangue gamma ‰ |
|---------------|----------------|-----|-------------------|-----------|--------------------------------------------|
| 1             | L. L.          | 20  | Allieva ostetrica | Nullipara | 910                                        |
| 2             | L. M.          | 18  | Allieva ostetrica | Nullipara | 1000                                       |
| 3             | S. S.          | 20  | Allieva ostetrica | Nullipara | 800                                        |

CONTENUTO IN TOCOFEROLO NEL SANGUE DI DONNE IN DIVERSA EPOCA DI GRAVIDANZA.

Le determinazioni quantitative sul sangue delle gravide sono state fatte su 19 soggetti ed i campioni esaminati sono stati complessivamente 23 in quanto in 4 gestanti si è ripetuta la ricerca a distanza di tempo onde poter

TABELIA 2

CONTENUTO IN TOCOFEROLO NEL SANGUE DI DONNE GRAVIDE

| Numero d'ordine | Cartella Clinica N°     | Cognome e nome | Età | Para             | Mese di gravidanza | Contenuto in tocoferolo nel sangue gamma % |
|-----------------|-------------------------|----------------|-----|------------------|--------------------|--------------------------------------------|
| 1               | 162/1949                | C. V.          | 34  | I <sup>a</sup>   | I <sup>o</sup>     | 910                                        |
| 2               | 3658/1948               | P. Z.          | 33  | II <sup>a</sup>  | II <sup>o</sup>    | 780                                        |
| 3               | 1198/1948<br>Ambulator. | M. L.          | 22  | I <sup>a</sup>   | III <sup>o</sup>   | 980                                        |
| 4               | 3451/1948               | R. G.          | 25  | I <sup>a</sup>   | V <sup>o</sup>     | 1080                                       |
| 5               | 3440/1948               | C. M.          | 25  | III <sup>a</sup> | V <sup>o</sup>     | 1060                                       |
| 6               | 301/1949                | S. D.          | 36  | VII <sup>a</sup> | V <sup>o</sup>     | 160                                        |
| 7               | 3954/1948               | P. E.          | 38  | II <sup>a</sup>  | VI <sup>o</sup>    | 708 (1)                                    |
| 8               | 163/1949<br>Ambulator.  | L. M.          | 23  | III <sup>a</sup> | VI <sup>o</sup>    | 1040                                       |
| 9               | 157/1949<br>Ambulator.  | A. M.          | 19  | I <sup>a</sup>   | VII <sup>o</sup>   | 1200                                       |
| 10              | 74/1949                 | P. V.          | 28  | II <sup>a</sup>  | VIII <sup>o</sup>  | 1290                                       |
| 11              | 3880/1948               | C. L.          | 42  | I <sup>a</sup>   | VIII <sup>o</sup>  | 1940                                       |
| 12              | 3881/1948               | D. S.          | 20  | I <sup>a</sup>   | IX <sup>o</sup>    | 2004                                       |
| 13              | 3428/1948               | B. R.          | 24  | I <sup>a</sup>   | IX <sup>o</sup>    | 1972                                       |
| 14              | 4053/1948               | P. M.          | 38  | IV <sup>a</sup>  | IX <sup>o</sup>    | 960                                        |
| 15              | 470/1949                | B. I.          | 22  | I <sup>a</sup>   | IX <sup>o</sup>    | 1428                                       |
| 16              | 1390/1949               | L. M.          | 35  | VI <sup>a</sup>  | IX <sup>o</sup>    | 1055                                       |
| 17              | 1396/1949               | G. C.          | 40  | XI <sup>a</sup>  | IX <sup>o</sup>    | 2700                                       |
| 18              | 1421/1949               | G. A.          | 19  | I <sup>a</sup>   | IX <sup>o</sup>    | 1370                                       |
| 19              | 1471/1949               | C. L.          | 34  | IV <sup>a</sup>  | IX <sup>o</sup>    | 2170                                       |
| 20              | 1390/1949               | L. M.          | 35  | IV <sup>a</sup>  | termine            | 1600                                       |
| 21              | 1396/1949               | G. C.          | 40  | XI <sup>a</sup>  | »                  | 3300                                       |
| 22              | 1421/1949               | G. A.          | 19  | I <sup>a</sup>   | »                  | 2180                                       |
| 23              | 1461/1949               | C. L.          | 34  | VI <sup>a</sup>  | »                  | 2700                                       |

(1) Affetta da miocardite.

constatare l'aumento rapido del contenuto del tocoferolo serico che si verifica negli ultimi giorni della gravidanza.

I risultati ottenuti sono riportati nella tabella 2, e sono molto chiari agli effetti della dimostrazione del continuo e progressivo aumento del tocoferolo nel sangue.

Si passa infatti ad una media di 890 gamma % con un minimo di 780 e massimo di 980 nei primi tre mesi di gravidanza, media pressochè identica a quella ottenuta fuori gravidanza, al valore medio di 1100 gamma % con minimo di 708 e massimo di 1620 per il V e VI mese, a 1480 gamma % con minimo di 1200 e massimo di 1940 per il VII ed VIII mese, a 1707 gamma % con massimo di 2700 e minimo di 960 per il IX mese, a 2445 gamma % con minimo di 1600 e massimo di 3300 al termine della gravidanza e cioè a travaglio di parto iniziato.

Anche qui i valori da noi ottenuti sono più alti di quelli ottenuti dagli altri AA. citati e le ragioni possono essere identificate con quelle esposte nel capitolo precedente.

E' interessante notare che il valore minimo è stato trovato in una gestante affetta da miocardite (caso 7).

#### CONTENUTO IN TOCOFEROLO NEL SANGUE DELLA MADRE IN PERIODO ESPULSIVO PARAGONATO AL CONTENUTO NEL SANGUE PROVENIENTE DAL TRALCIO PLACENTARE DEL CORDONE OMBELICALE DEL PRO- PRIO NATO.

Sono molto interessanti i dati ottenuti con questo gruppo di ricerche le quali sono state eseguite tutte col medesimo reattivo allo scopo di avere, se non valori assoluti esatti almeno dati relativi costanti. E' ovvio che se qui vi fosse stato errore di tecnica esso si sarebbe ripetuto tanto sul sangue materno che su quello placentare. I risultati ottenuti, riassunti nella tabella 3, mettono in chiara evidenza la grande differenza esistente fra il tasso tocoferolico del sangue materno e quello placentare. Accanto ad un valore medio di 1455 gamma % per il sangue materno, con un minimo di 1143 ed un massimo di 1750, troviamo una media di 203 gamma %, con un massimo di 420 ed un minimo di 67 per il sangue placentare.

I nostri risultati differiscono in pieno da quelli ottenuti da ATHANASSIU (14) nei sei casi da lui esaminati ed invece collimano con quelli di STRAUMFJORD e QUAIFFE (12) i quali hanno trovato, come abbiamo ricordato più sopra, che il quantitativo dei tocoferoli nel sangue materno è in media cinque volte maggiore di quello del sangue del tralcio placentare del funicolo.

Il fatto che Athanassiou abbia raccolto separatamente il sangue dell'arteria e della vena del cordone ombelicale non serve per spiegare i valori molto alti trovati da questo A. per il fatto che, se il sangue della vena do-

vesse contenere tutto il tocoferolo che l'A. asserisce, anche noi avremmo dovuto trovare quantitativi molto più elevati: è noto infatti che prelevando il sangue che liberamente defluisce dal tralcio placentare del cordone ombelicale si viene a raccogliere quasi esclusivamente sangue dell'a vena.

Dalla tabella riassuntiva si nota inoltre che non vi è nessuna relazione tra il peso, il sesso del neonato ed il quantitativo di tocoferoli posseduti dalla madre e dal neonato stesso, il che conferma, anche in questo particolare, i risultati ottenuti da Straumfjord e Quaife.

TABELLA 3

CONTENUTO IN TOCOFEROLO NEL SANGUE DELLA MADRE IN PERIODO ESPULSIVO PARAGONATO AL  
CONTENUTO IN TOCOFEROLO NEL SANGUE PROVENIENTE DAL TRALCIO PLACENTARE DEL FUNICOLO

| Numero<br>d'ordine | Cartella Clinica<br>N. | Cognome<br>e nome | Età | Para              | Sesso<br>del neonato | Peso<br>del<br>neonato | Contenuto in<br>tocoferolo nel<br>sangue materno<br>gamma $\mu$ / $\mu$ | Contenuto in<br>tocoferolo nel<br>sangue placentare<br>gamma $\mu$ / $\mu$ |
|--------------------|------------------------|-------------------|-----|-------------------|----------------------|------------------------|-------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------|
| 1                  | 928/1949               | S. C.             | 30  | IV <sup>a</sup>   | femm.                | 2800                   | 1280                                                                    | 140                                                                        |
| 2                  | 995/1949               | R. L.             | 37  | II <sup>a</sup>   | masc.                | 2200                   | 1143                                                                    | 420                                                                        |
| 3                  | 1015/1949              | S. A.             | 26  | I <sup>a</sup>    | masc.                | 3650                   | 1150                                                                    | 248                                                                        |
| 4                  | 1060/1949              | C. A.             | 34  | II <sup>a</sup>   | femm.                | 3000                   | 1300                                                                    | 67                                                                         |
| 5                  | 1079/1949              | G. A.             | 46  | I <sup>a</sup>    | femm.                | 3320                   | 1750                                                                    | 200                                                                        |
| 6                  | 1149/1949              | T. G.             | 38  | VIII <sup>a</sup> | masc.                | 3100                   | 1665                                                                    | 107                                                                        |
| 7                  | 1185/1949              | G. I.             | 33  | IX <sup>a</sup>   | masc.                | 3280                   | 1460                                                                    | 180                                                                        |
| 8                  | 1243/1949              | U. A.             | 24  | IV <sup>a</sup>   | masc.                | 3880                   | 1750                                                                    | 210                                                                        |
| 9                  | 1266/1949              | M. M.             | 29  | III <sup>a</sup>  | masc.                | 3450                   | 1550                                                                    | 250                                                                        |
| 10                 | 1273/1949              | S. G.             | 23  | I <sup>a</sup>    | femm.                | 3150                   | 1500                                                                    | 210                                                                        |
|                    |                        |                   |     |                   |                      |                        | media 1455                                                              | media 203                                                                  |

#### CONTENUTO IN TOCOFEROLO NEL COLOSTRO E NEL LATTE DI DONNA.

Per questa ricerca abbiamo esaminato 20 campioni di colostro e di latte prelevato in diverse epoche dell'allattamento. I risultati ottenuti sono elencati nella tabella 4 ed appaiono molto interessanti per il fatto che si dimostra che il latte di donna contiene vitamina E e che il colostro ed il latte dei primi giorni ne contiene moltissima.

In prima giornata di puerperio abbiamo trovato nel colostro un massimo di 2780 gamma % ed un minimo di 960; in seconda giornata un massimo di 2940 gamma % ed un minimo di 313.

Il tasso scende poi gradatamente con qualche piccola variazione in più ed in meno finchè verso il terzo mese il quantitativo diventa non dosabile.

I valori ottenuti da noi appaiono un poco inferiori a quelli ottenuti da NEUWEILER (17), ABDERHALDEN (16) e RAURAMO (10) però in complesso confermano in pieno quello che questi AA. avevano affermato e che cioè il quantitativo di tocoferoli contenuto nel colostro è maggiore di quello del latte e che il quantitativo contenuto nel latte diminuisce man mano che ci si allontana dal parto.

TABELLA 4

CONTENUTO IN TOCOFEROLO NEL COLOSTRO E NEL LATTE DI DONNA

| N. d'ord. | Cartella clinica N. | Cognome e nome | Età | Para             | Giorno puerp.    | Contenuto in tocoferolo gamma $\alpha/\alpha$ |           |
|-----------|---------------------|----------------|-----|------------------|------------------|-----------------------------------------------|-----------|
|           |                     |                |     |                  |                  | nel colostro                                  | nel latte |
| 1         | 620/1949            | B. N.          | 23  | III <sup>a</sup> | I <sup>0</sup>   | 960                                           | —         |
| 2         | 786/1949            | R. B.          | 21  | I <sup>a</sup>   | I <sup>0</sup>   | 2600                                          | —         |
| 3         | 685/1949            | D. I.          | 36  | II <sup>a</sup>  | I <sup>0</sup>   | 2780                                          | —         |
| 4         | 4051/1948           | D. V.          | 27  | I <sup>a</sup>   | II <sup>0</sup>  | 2940 (1)                                      | —         |
| 5         | 886/1949            | R. B.          | 21  | I <sup>a</sup>   | II <sup>0</sup>  | 1180                                          | —         |
| 6         | 3775/1949           | M. R.          | 35  | II <sup>a</sup>  | III <sup>0</sup> | —                                             | 920       |
| 7         | 470/1949            | B. I.          | 22  | I <sup>a</sup>   | III <sup>0</sup> | —                                             | —         |
| 8         | 685/1949            | B. I.          | 36  | II <sup>a</sup>  | III <sup>0</sup> | —                                             | 313       |
| 9         | 786/1949            | R. B.          | 21  | I <sup>a</sup>   | III <sup>0</sup> | —                                             | 005       |
| 10        | 786/1949            | R. B.          | 21  | I <sup>a</sup>   | IV <sup>0</sup>  | —                                             | 328       |
| 11        | 786/1949            | R. B.          | 21  | I <sup>a</sup>   | V <sup>0</sup>   | —                                             | 434       |
| 12        | 786/1949            | R. B.          | 21  | I <sup>a</sup>   | VI <sup>0</sup>  | —                                             | 304       |
| 13        | 389/1949            | B. A.          | 24  | I <sup>a</sup>   | VI <sup>0</sup>  | —                                             | 670       |
| 14        | 4040/1949           | R. A.          | 18  | I <sup>a</sup>   | VII <sup>0</sup> | —                                             | 215       |
| 15        | 3881/1949           | D. S.          | 20  | I <sup>a</sup>   | VII <sup>0</sup> | —                                             | 157       |
| 16        | 3881/1949           | D. S.          | 20  | I <sup>a</sup>   | IX <sup>0</sup>  | —                                             | 645       |
| 17        | 470/1949            | B. I.          | 22  | I <sup>a</sup>   | XIV <sup>0</sup> | —                                             | 152       |
| 18        | 533/1949            | D. V. G.       | 18  | I <sup>a</sup>   | XV <sup>0</sup>  | —                                             | 363       |
| 19        | 328/1949            | P. I.          | 22  | III <sup>a</sup> | LX <sup>0</sup>  | —                                             | 184       |
| 20        | 1767/1948           | P. N.          | 34  | IV <sup>a</sup>  | XC <sup>0</sup>  | —                                             | non dos.  |

(1) Colostro molto ricco in grasso; la determinazione è stata eseguita sull'estratto tal quale. Solubilità incompleta del residuo nel reattivo, anche in presenza di benzolo.

CONTENUTO IN TOCOFEROLO NEL SANGUE DI DONNE IN DIVERSE GIORNATE DI PUERPERIO.

Dopo il parto il contenuto in tocoferolo nel sangue diminuisce rapidamente ed abbiamo notato (vedi tabella 5) che in molti casi esso si riporta in breve tempo vicino ai valori trovati nei soggetti sani non gravidi. In un solo caso (n. 5) è stato trovato un tasso piuttosto elevato, che però può essere spiegato col fatto che si trattava di una donna che, avendo avuto un parto prematuro, allattava un neonato debole che nei primi giorni di vita non si era attaccato al seno materno ed aveva dovuto essere alimentato con latte prelevato da altra nutrice e somministrato con cucchiaino.

In queste circostanze è noto che, mancando lo stimolo della suzione, la portata lattea si verifica con ritardo e quindi ci sembra logico avanzare la ipotesi che, non essendo sottratto il tocoferolo dal latte, esso possa essere trovato ancora in notevole quantità nel sangue: è però dimostrativo il fatto che nella stessa donna dopo cinque giorni il quantitativo di tocoferolo serico sia diminuito di 720 gamma.

TABELLA 5

CONTENUTO IN TOCOFEROLO NEL SANGUE DI DONNE IN DIVERSE EPOCHE DI PUERPERIO

| N. d'ordine | Cartella clinica N. | Cognome e nome | Età | Para            | Giornata di puerp. | Contenuto in tocoferolo nel sangue gamma o/o |
|-------------|---------------------|----------------|-----|-----------------|--------------------|----------------------------------------------|
| 1           | 59/1949             | C. A.          | 24  | II <sup>a</sup> | I                  | 932                                          |
| 2           | 470/1949            | B. I.          | 22  | I <sup>a</sup>  | I                  | 960                                          |
| 3           | 59/1949             | C. A.          | 24  | II <sup>a</sup> | III                | 1100                                         |
| 4           | 470/1949            | B. I.          | 22  | I <sup>a</sup>  | III                | 900                                          |
| 5           | 4040/1948           | R. A.          | 18  | I <sup>a</sup>  | VII                | 1770 (1)                                     |
| 6           | 4040/1948           | R. A.          | 18  | I <sup>a</sup>  | XII                | 1050                                         |
| 7           | 1767/1949           | P. N.          | 34  | IV <sup>a</sup> | XC                 | 807                                          |

(1) La puerpera ha avuto un parto prematuro all'VIII<sup>o</sup> mese di gravidanza.

CONCLUSIONI E CONSIDERAZIONI

Col metodo di Emmerie ed Engel, eseguito con le modifiche sopra descritte siamo riusciti ad ottenere una serie di dati che portano un ulteriore contributo alle conoscenze sul comportamento dei tocoferoli nei liquidi organici umani in relazione ai fenomeni gravidici e puerperali.

I nostri risultati, in riassunto, sono i seguenti:

1) I tocoferoli nel siero della donna gravida aumentano dal principio

della gravidanza sino al termine di essa potendo raggiungere valori tripli del normale.

2) I tocoferoli sono presenti in quantità cospicua nel colostro e nel latte dei primi giorni e la loro concentrazione diminuisce notevolmente man mano che ci si allontana dal periodo del parto sino ad essere ad un certo punto in quantità così piccola da divenire praticamente non dosabile.

3) I tocoferoli serici appena dopo il parto diminuiscono rapidamente e si portano, durante il puerperio, ai valori normali.

4) I tocoferoli sono contenuti nel siero di sangue proveniente dal tralcio placentare del funicolo in una quantità che è in media la quinta parte di quella contenuta nel sangue materno al momento del parto.

I nostri risultati quindi praticamente concordano con quelli degli altri AA. che ci hanno preceduti in simili ricerche, con qualche piccola differenza in più ed in meno sui valori assoluti mentre sui valori relativi (come per esempio quelli che dimostrano l'aumento progressivo dei tocoferoli serici in gravidanza) l'accordo sembra in complesso quasi completo. L'unica differenza rilevante è quella che appare dal confronto dei dati da noi ottenuti con l'analisi del sangue proveniente dal tralcio placentare del funicolo e quelli ottenuti da ATHANASSIU (<sup>14</sup>) nelle determinazioni eseguite sul siero del sangue prelevato dalla vena ombelicale, ma ciò nonostante, in attesa di ripetere l'esperimento nelle stesse condizioni di questo A. noi abbiamo buoni argomenti per affermare che i nostri risultati, suffragati dall'analogia con quelli di altri AA. (Straumfjord e Quaife) siano accettabili già da questo momento.

Ad illustrazione di quanto abbiamo riportato abbiamo voluto riassumere anche in alcuni grafici i nostri dati ed abbiamo ottenuto delle curve assai dimostrative. A fig. 3 in unico grafico abbiamo riunito i risultati delle determinazioni sul sangue di giovani donne non gravide, di donne in diverso periodo di gestazione, di puerpere ed abbiamo confrontato la curva così ottenuta con quella derivata dalle analisi eseguite sul colostro e sul latte.

Il fatto più sopra accennato appare in tutta la sua evidenza e si nota come l'accumulo dei tocoferoli nel siero avvenga principalmente nella vicinanza del termine della gravidanza e come queste sostanze decrescano rapidamente dopo il parto eliminandosi per mezzo della secrezione mammaria. I valori della tocoferolemia al terzo mese di puerperio si portano alla norma mentre cessa l'eliminazione attraverso il latte.

A fig. 4 è rappresentato un grafico ottenuto determinando quantitativamente il contenuto in tocoferoli nella stessa donna in diverse giornate di puerperio: esso rappresenta un indiscutibile documento della progressiva diminuzione dei tocoferoli nel latte che si verifica dopo l'inizio dell'allattamento.

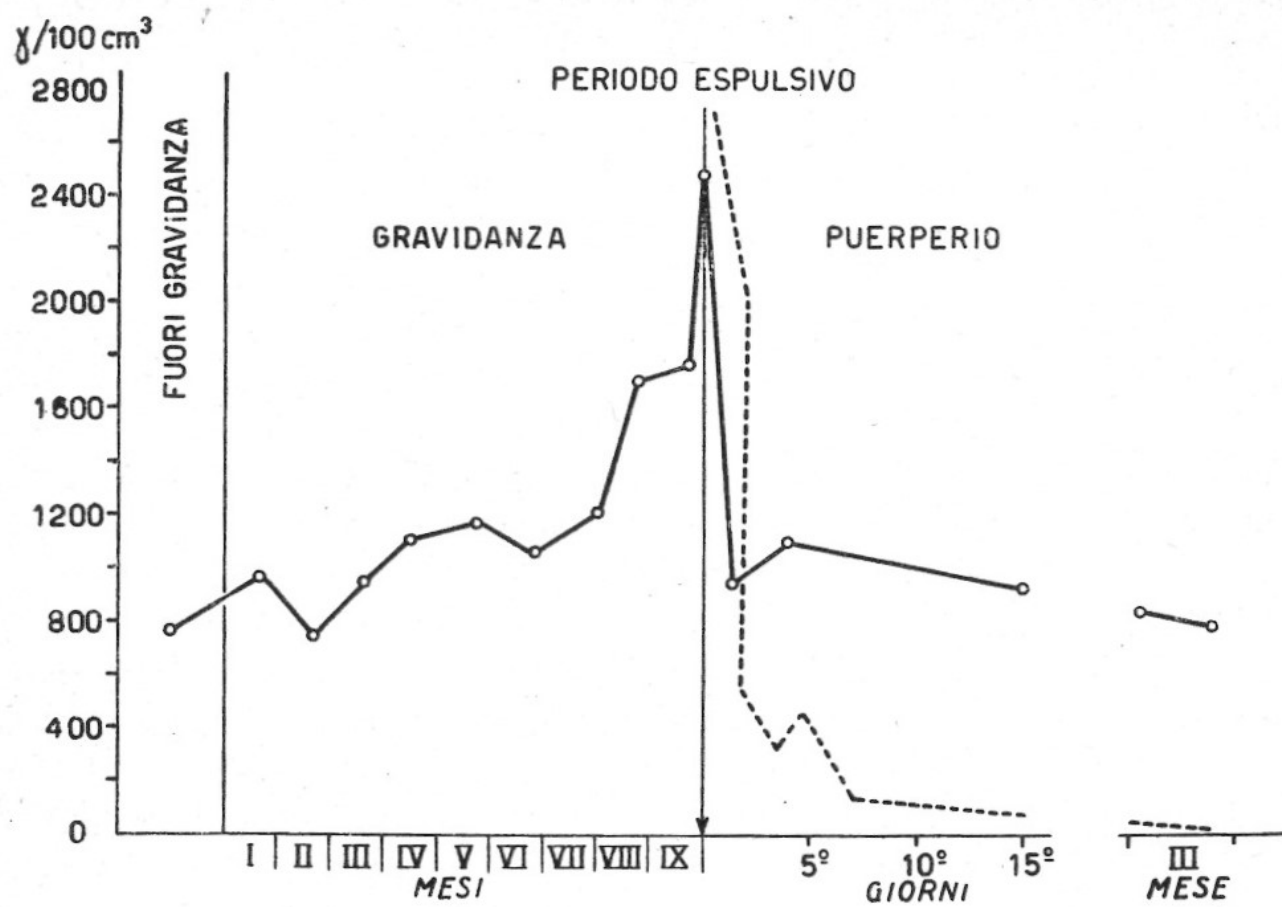


Fig. 3.

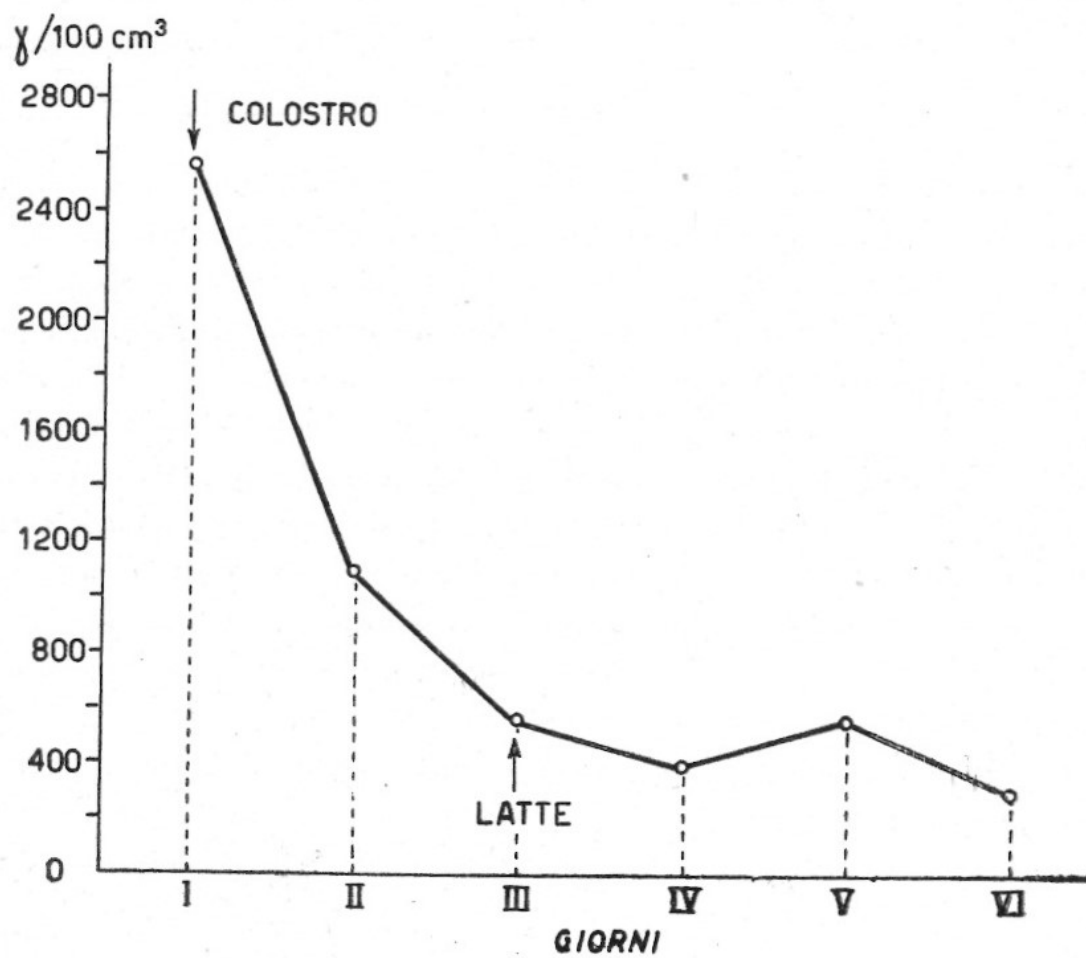


Fig. 4.

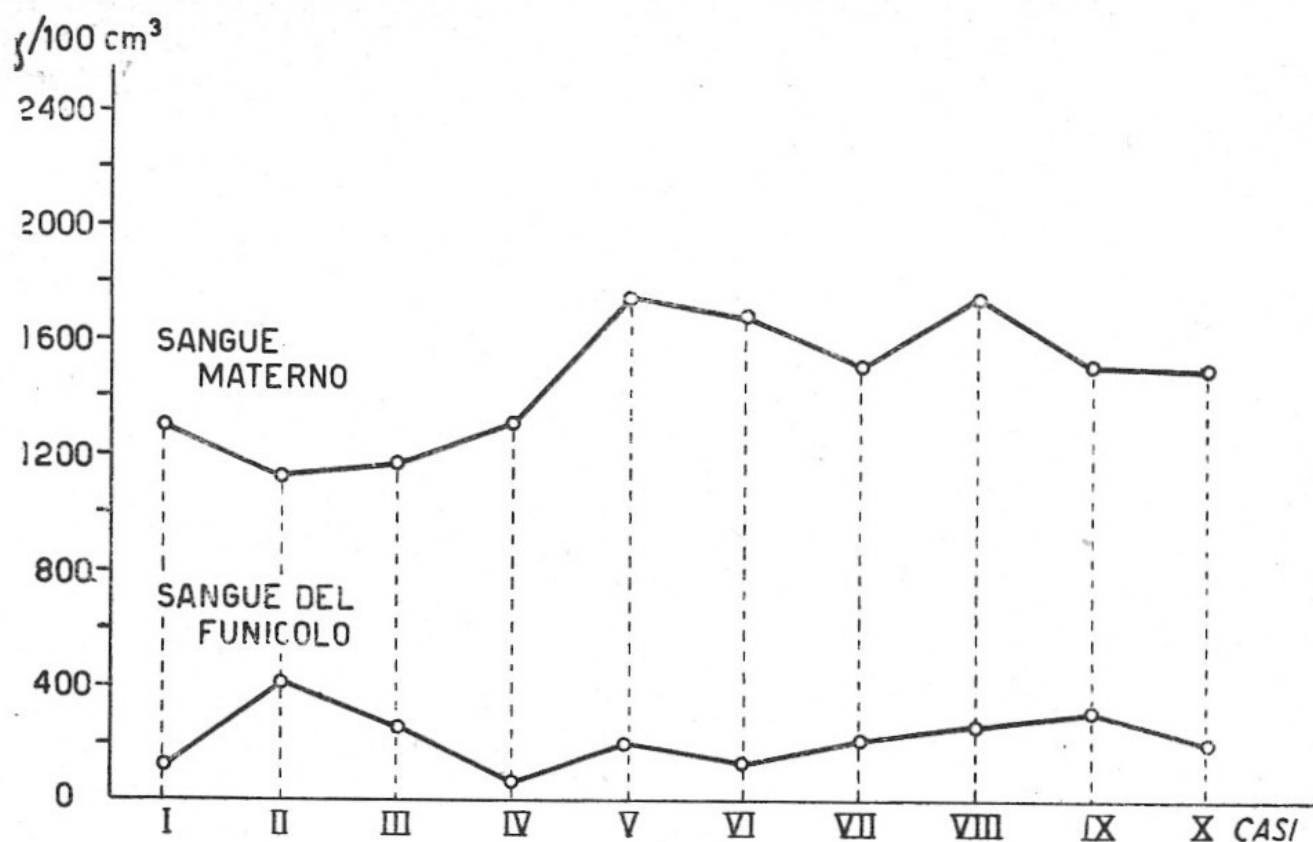


Fig. 5.

La fig. 5 è dimostrativa per la differenza fra la tocoferolemia materna e quella fetale. Da essa si nota la cospicua differenza tra i valori ottenuti col siero di sangue della madre e quelli ottenuti col siero ricavato dal sangue dal tralcio placentare del funicolo, ed è prova evidente che la placenta esplica un'azione che limita il passaggio dei tocoferoli dalla madre al feto.

I fatti sopra enunciati la cui evidenza è tale da non poter essere messa in dubbio, ci permettono di trarre alcune deduzioni il cui interesse nel campo della fisio-patologia ostetrica e del neonato è veramente notevole. Esse sono :

1) Non sembra necessaria un'elevata concentrazione di tocoferoli nel siero per permettere un buon andamento della gravidanza sopra tutto nei primi mesi.

2) Non sembra necessaria un'elevata concentrazione di tocoferoli nel siero della madre per permettere un buon sviluppo del feto (il che è provato dal fatto che non vi è relazione tra tocoferolemia materna e fetale).

3) Sembra che la concentrazione di tocoferoli nel siero di sangue della madre avvenga per permetterne il trasferimento ad alte dosi nel colostro e nel primo latte.

4) Molto probabilmente i tocoferoli per la loro efficacissima attività antiossidativa e per la loro proprietà di facilitare l'assorbimento e l'utilizzazione di altre sostanze e specialmente dell'a vitamina A <sup>(19)</sup> sono necessari

al neonato nella fase di adattamento alla vita extra-uterina e soprattutto nel difficile periodo dell'inizio dei fenomeni digestivi (il che è suggerito dal fatto che il feto riceve poco tocoferolo dal sangue materno, mentre ne ingerisce normalmente forti quantità col colostro e col primo latte) e per quest'ultima considerazione ci sembra logico consigliare di aggiungere al latte destinato ai neonati allevati artificialmente unitamente alle altre vitamine, anche la vitamina E, dato che è risaputo (Abderhalden, Neuweiler, Rauramo) che il latte vaccino contiene quantità insignificanti di questa vitamina e che i vari latti in polvere non ne contengono affatto.

Roma, Clinica Ostetrica e Ginecologica dell'Università - Istituto Superiore di Sanità - Laboratorio di Biologia, 22 ottobre 1949.

#### BIBLIOGRAFIA

- 1) Vitaminologica (1946) parte III, pag. 132.
- 2) Brit. Med. Journ. 45-47, 400 (1948).
- 3) The antistherility Vitamine Fat Soluble E. . Memoirs of the University of California. Berkeley California 1927.
- 4) Riv. It. di Ginec. 17, 105 (1935).
- 5) C.r. Acad. Scien. 214, 691 (1942).
- 6) C.r. Soc. Biol. 137, 210 (1943).
- 7) Ueber die chemische Bestimmung des E-Vitamins in Serum und E-Vitamingehalt des Serums bei Frauen (Nota preventiva) Acta Obst. et Gynec. Scandinavica vol. XXIV, 1944, fasc. II, pag. 192.
- 8) Helvetica Chm. Acta. XXV, 1942, pag. 1469.
- 9) Cfr. (7) e (10).
- 10) Sur le dosage du tocophérol (vitamine E) dans le sérum sanguin et le lait, et sur la teneur du sérum en tocophérol, particulièrement pendant la grossesse et la période de l'allaitement. Acta Obst. et Gynec. Scandinavica, vol. 27, Suppl. 2, 1946, pag. 1-74.
- 11) Cfr. (10).
- 12) Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. N. Y. 61, 369 (1946).
- 13) Zol. f. Geburtsh. 127, 169 (1946).
- 14) Klin. Wschr. 24-25, 362 (1947).
- 15) Journ. of Biol. Chem. 76, 273 (1928).
- 16) Abderhalden R. - Vitamin E content of human milk and cow milk: Biochem. Z. 47, 318 (1947).
- 17) Int. Z. f. Vitaminforsch. 20, 108 (1948).
- 18) Schweiz. Med. Wschr. 78, 535, (1949).