

31. AZIONE DEL COMPLESSO VITAMINICO B² SULLA RIGENERAZIONE DEI GLOBULI SANGUIGNI NELLA ANEMIA SPERIMENTALE (*).

Dalle ricerche di Seidel, Salmon, Auge, Scotti-Foglieni e soprattutto di Goldberger è emerso che insieme con la vitamina antineuritica, labile al calore, ne esiste un'altra termostabile che Goldberger ha posto in rapporto con la pellagra e che fu chiamata B² o G. Smith descrisse i mezzi di estrazione separata dei due fattori B¹ e B² e mise in maggiore evidenza il fatto che la polineurite dei ratti è provocata da due coefficienti: la somministrazione abbondante del fattore termostabile B² e la sottrazione completa del fattore B¹. Gli stessi Autori posero pure in rilievo che fra l'emina o l'ematina e il fattore B² non esistono rapporti.

Successivamente la vitamina B² fu a sua volta distinta in un fattore di accrescimento, al quale rimase il nome di B² e che si identificò come flavina, in un fattore antidermatitico o antipellagroso, da György chiamato B⁶ e infine in un fattore antianemico e antispru detto anche fattore estrinseco di Castle.

La flavina o vitamina B² solubile in acqua, meno in alcool, insolubile in etere, acetone, benzolo, cloroformio ecc., parteciperebbe ad uno dei sistemi di deidrasi necessari all'organismo per i processi della respirazione interna.

La vitamina B⁶, antipellagrosa, secondo Kinnersley e collaboratori, si estrae con carbone da estratto di lievito di birra.

La mancanza del 3° fattore del complesso B² o fattore estrinseco di Castle determina uno stato di anemia simile a quello della spru tropicale e dell'anemia perniciosa. Secondo Castle il fattore antianemico del fegato deriverebbe appunto dall'unione di un fattore normalmente presente nello stomaco, secreto dalla mucosa di questo, fattore intrinseco, con un fattore estrinseco identificabile con uno dei componenti del complesso vitaminico B², differenziabile dalla flavina ed anche dalla vitamina B⁶. Anemie potrebbero prodursi o per la mancanza del fattore estrinseco o per quella

del fattore intrinseco o per mancato riassorbimento del fattore antianemico, risultante da due primi, da parte del tubo gastroenterico. Ma non tutti gli Autori sono d'accordo nel ritenere che il fattore estrinseco di Castle si indentifichi con uno degli elementi che formano il complesso B². Il dubbio deriva dall'osservazione che non tutti i prodotti contenenti il complesso B² sono efficaci nella cura dell'anemia perniciosa.

Tuttavia a Röminger e Bomscow è riuscito di provocare nei ratti sintomi simili a quelli della spru tropicale con dieta carenzata del complesso B².

Gli AA. alimentarono con solo latte di capra ratti di 21 giorni del peso di gr. 27. Gli animali presentarono ben presto diarrea. Le feci, contenevano grasso nella proporzione del 50 %, all'esame microscopico dimostravano cristalli di acidi grassi e grasso in gocce. Dal 14° giorno di alimentazione l'addome si rigonfiò per eccesso di processi fermentativi intestinali; v'era inoltre difficoltà nel bere. Nel frattempo si produsse una anemia grave a tipo pernicioso: gli eritrociti diminuirono fino a un milione e meno, diminuì pure l'emoglobina ma in quantità proporzionalmente minore, determinandosi così un aumento dell'indice glubulare; si notò aumento dei linfociti e diminuzione dei neutrofilo nei quali erano caratteristici i processi di segmentazione. Si osservò inoltre anisocitosi, poichilocitosi, policromasia, presenza di megaloblasti e normoblasti; i reticulociti, all'inizio dell'esame numerosi, diminuirono fino al 4-5 %. Il sangue era di colore cioccolato e nel siero si notava molto grasso. In alcuni casi si ebbero disturbi nervosi, debolezza muscolare e paralisi. All'autopsia il fegato apparve piccolo, atrofico, grasso. Il glicogeno nel fegato era scomparso, lo zucchero nel sangue ridotto del 50 %, l'urobilina aumentata di molto nelle urine.

Gli stessi Autori, inoculando estratto epatico videro che si provocava una notevole crisi reticulocitica con miglioramento del peso e dello stato generale degli animali. Il valore dell'emoglobina invece aumentava di poco e ciò in conseguenza del lieve contenuto in ferro del latte di capra.

La somministrazione di fegato più ferro guariva completamente la malattia così come la spru. Gli AA. videro inoltre che la malattia dei ratti in esame guariva con l'aggiunta, in piccole quantità, di estratto di lievito di birra, di carne o di estratto di carne, che verosimilmente contenevano lo stesso fattore estrinseco di Castle. Non ebbero elementi per ritenere che

la malattia derivasse da uno scarso valore alimentare della caseina, del grasso o dalla carenza delle vitamine A, C o B² (flavina).

Anche Diehl e Kühnau fecero ricerche sul fattore esogeno di Castle e soprattutto sulla natura di esso.

Agli AA. era noto che, mescolando succo gastrico di individuo sano con carne o con uova e con lievito, sostanze che contengono il fattore esogeno, e somministrando la miscela ad un individuo affetto da anemia perniciosa, si determina in esso una remissione della malattia. Poichè le tre sostanze sono ricche in vitamina B², si poteva ritenere che il fattore esogeno ignoto dovesse essere identificato con detta vitamina.

Per rispondere a tale quesiti detti AA. somministrarono a pazienti anemici ogni giorno l'estratto vitaminico ottenuto da gr. 40 di lievito, che veniva in precedenza trattato o no con succo gastrico. Nei 3 pazienti si notò un piccolissimo aumento di reticolociti; non aumento complessivo degli eritrociti e dell'emoglobina.

Gli AA. escludono perciò l'identità del fattore antianemico con quello vitaminico B².

Alle stesse conclusioni giunsero D. K. Miller e C. P. Rhoads che sperimentarono su ratti col preparato di fegato n. 343 Lilly attivo sul decorso dell'anemia e contenente una quantità sufficiente di B¹ e insufficiente di B².

Ricerche intorno alla vitamina B² furono eseguite anche sul cane. Goldberger nel cane pellagroso notò pigmentazione e infiammazione del faringe e dell'esofago come press'a poco si osservano nella cosiddetta « black tongue ».

Le ricerche furono riprese da Rhoads e Miller, che alimentarono 40 cani grossi, adulti con dieta di Goldberger modificata e precisamente così composta:

Farina bianca di segala	.	.	.	.	gr.	600
Piselli californiani in farina	.	.	.	.	»	500
Caseina purificata	.	.	.	.	»	500
Zucchero	.	.	.	.	»	300
Olio di cotone	.	.	.	.	»	300
Olio di fegato di merluzzo	.	.	.	.	»	200
Miscela salina di Cowgill	.	.	.	.	»	30
Pula di riso	.	.	.	.	»	400

La farina di segala e la caseina erano precedentemente mescolate e cotte in vapore per 2 ore e poi aggiunte alle altre sostanze.

Una parte degli animali presentò manifestazioni tipo spru: stomatite lieve, disturbi gastro-intestinali: vomito, diarrea con feci acquose, gialle, semisolide.

Tutti gli animali persero di peso (24 % del peso iniziale = Kg. 4,51 in media). L'aspetto del sangue variò nel 60 % dei cani e nel 30 % variò di molto; il valore medio degli eritrociti da 6.444.000 scese a 3.100.000, l'emoglobina dall'82,7 % al 56,4 %; la velocità di sedimentazione aumentò notevolmente. Il midollo osseo normalmente grassoso e povero di cellule divenne solido, rosso e macroscopicamente non differenziabile da quello dell'anemia perniciosa. Si ebbero proliferazione degli endoteli e presenza di megaloblasti con poca tendenza alla maturazione. Il quadro ematico quindi, era simile a quello della perniciosa e della spru.

Dopo questi lavori la « blak tongue » che era stata considerata malattia da infezione, da mancanza di carotina, da insufficiente apporto di ferro, fu ritenuta invece malattia da avitaminosi B² poichè curabile con un preparato ricco di questo fattore e, data la concidenza dei sintomi, dell'etiologia, della diffusione geografica della pellagra e della « blak tongue », si pensò anche che tra le due entità morbose esistesse una relazione diretta e che le medesime potessero essere guarite dallo stesso fattore B². Occorre però osservare che diete differenti da quella di Goldberger e come questa prive di fattore B² non provocano negli animali le stesse manifestazioni morbose e che, d'altro canto, un nesso patogenetico tra pellagra e blak-tongue può essere posto il dubbio dal fatto che questa seconda malattia non si manifesta sempre fatalmente nei cani e nei conigli alimentati con cibi privi di fattore B². Se il nesso tra stato di anemia e fattore B² esiste, come si può sospettare per le ricerche precedentemente riassunte, è anche vero che questo rapporto non è ancora nettamente definito. Si è pertanto ritenuto utile di portare un contributo all'argomento, indagando come la somministrazione del fattore B² agisse sul decorso della ricostruzione del sangue in ratti albinici anemizzati e alimentati con dieta base priva di quel complesso vitaminico.

TECNICA.

Le ricerche sono state eseguite su 16 ratti albinici, dei quali i primi 10, appartenenti ad una medesima covata, erano stati sottoposti a vitto spe-

ziale con carenza del complesso vitaminico B^2 fin dal 20 novembre 1935; gli altri 6, appartenenti tutti ad un'altra covata, erano a dieta carenzata dal 1° febbraio 1936.

Per l'alimentazione degli animali si è usata la seguente miscela:

Caseina purificata ⁽¹⁾	.	.	.	.	18 %
Amido	.	.	.	.	44 »
Farina di grano	.	.	.	.	30 »
Burro	.	.	.	.	9 »
Miscela salina di Osborne-Mendel ⁽²⁾	.	.	.	.	4 »
Olio di fegato di merluzzo	.	.	.	.	1 »
Ovalbumina	.	.	.	.	7 »

Estrazione del complesso vitaminico B^2 . — E' stata eseguita dal lievito di birra secondo la tecnica di Gjörgy e collaboratori:

Grammi 250 di lievito di birra finemente triturato si sono fatti bollire 8' con gr. 30 di acqua, poi si è filtrato e il liquido risultante è stato posto sotto toluolo. Indi si è saggiata la reazione al rosso congo su una piccola quantità determinata del liquido e si è calcolata la quantità di soda concentrata necessaria per la neutralizzazione della quantità totale del filtrato. Dopo la soda si è aggiunto acido solforico al 50 % in tale quantità che la soluzione complessiva contenesse il 5 % dell'acido.

Si è provocata poi la sproteizzazione del filtrato con volframato di sodio (gr. 100 per cmc. 500 di filtrato acidificato).

⁽¹⁾ La caseina è stata trattata con alcool (95°) a caldo, per 5 ore.

⁽²⁾ La miscela salina di Osborne-Mendel è così composta:

Carbonato di Ca		134,8	Ioduro di K		0,02
Carbonato di Na		34,2	Fluoruro di Na		0,0245
Acido fosforico		103,2	Carbonato di Mg		24,2
Acido solforico		9,2	Carbonato di K		143,3
Acido citrico		111,1	Cloruro di sodio		53
Citrato ferrico		6,34	Solfato di manganese		0,079

Si mescolano gli acidi e le basi aggiungendo acqua. La miscela viene portata a secchezza a bagnomaria e i sali così disseccati si trituran in mortaio.

Dopo precipitazione e nuova filtrazione, dal filtrato si è estratto in ripetute volte l'acido fosfowolframico in eccesso con alcool amilico. Successivamente l'alcool amilico rimasto nel filtrato fu estratto con etere di petrolio. Si otteneva così l'estratto acquoso contenente il fattore B^2 .

Dell'estratto sono stati somministrati quotidianamente *per os* con pipetta cmc. 0,5 ad alcuni degli animali in esperimento. Nei medesimi si praticava a conveniente distanza di tempo l'esame del sangue, prelevato con piccolo taglio della coda, consistente nel conteggio dei globuli rossi e dei leucociti (col Thoma-Zeiss), nella misura dell'emoglobina (emometro di Fleischl-Miescher) nell'esame degli strisci di sangue colorati vitalmente con brillant-cresyl-blau e con il metodo combinato di May-Grünvald-Giemsa. Il valore globulare era calcolato prendendo come base i valori degli eritrociti e dell'emoglobina misurati all'inizio dell'anemizzazione con pirodina che veniva inoculata sotto cute alla diluizione del 2 %.

Disponendo, come sopra si è detto, di 16 ratti albi si è ritenuto opportuno distribuirli per le finalità dell'esperimento in modo che alcuni avessero l'estratto vitaminico solo nel periodo di ricostruzione sanguigna, altri che durante l'anemizzazione, altri ancora in nessuno dei due periodi come risulta dal seguente schema:

PRIMA COVATA				SECONDA COVATA			
2, 4, 6, 8	Anem.	Ricostr.		11, 12	Anem.	Ricostr.	
1, 3, 7, 9	»	»	+ B^2	13, 14	»	»	+ B^2
5, 10	»	+ B^2	»	15, 16	»	+ B^2	»

I risultati sperimentali sono esposti in forma riassuntiva nelle accluse tabelle.

Data	Peso gr.	Piro- dina 2 ‰ gr.	Trattamento	Osservazioni	Eritrociti	Hb %	Valore glo- bulare
RATTO N. 1.							
marzo							
7	123	—	in carenza B ² da giorni 99	— —	6.768.000	70	1
13	94	—	—	— —	6.400.000	50	0,75
18	132	0,01	—	—	—	—	—
20	126	0,01	—	abbattuto, pelo arruf- fato	5.608.000	38	0,65
22	110	0,01	—	caduta del pelo, aniso -poichilocitosi	3.256.000	40	1,27
23	—	—	—	non mangia, muore	—	—	—
RATTO N. 2.							
13	82	—	in carenza B ² da giorni 105	— —	8.480.000	90	1
18	112	0,01	—	— —	6.320.000	75	0,90
20	111	0,01	—	— —	4.800.000	60	0,95
22	108	0,01	—	abbattuto, pelo arruf- fato, tremori musco- lari, non mangia	3.264.000	40	1,14
24	98	—	—	muore; emazie vacuo- lizzate poichilo-ani- socitosi	3.224.000	37	1,08
RATTO N. 3.							
13	100	—	in carenza B ² da giorni 105	— —	7.232.000	90	1
18	130	0,01	—	—	—	—	—
20	121	0,01	—	abbattuto, pelo arruf- fato	6.448.000	70	0,87
22	110	0,01	—	caduta del pelo, emazie vacuolizzate	4.820.000	40	0,66
25	—	—	—	muore	—	—	—
RATTO N. 4.							
12	112	—	in carenza B ² da giorni 104	— —	8.800.000	95	1
16	117	—	—	— —	6.256.000	48	0,70
21	134	0,01	—	— —	—	—	—
23	128	0,01	—	è meno vivace	—	—	—
25	120	0,01	—	pelo arruffato	3.248.000	50	1,4
27	111	—	—	abbattuto, sommi- nistrazione gr. 0,5 di lievito di birra	3.056.000	40	1,2
28	—	—	—	muore	—	—	—

Data	Peso gr.	Piro- dina 2‰ gr.	Trattamento	Osservazioni	Eritrociti	Hb ‰	Valore glo- bulare
RATTO N. 5.							
marzo							
9	100	—	in carenza B ² da giorni 101	— —	7.380.000	90	1
14	—	—	—	muore; reperto autopsico: nulla	—	—	—
RATTO N. 6.							
11	120	—	in carenza B ² da giorni 103	— —	7.200.000	90	1
16	143	—	—	— —	7.218.000	67	0,70
21	142	0,01	—	— —	—	—	—
24	115	0,01	—	è meno vivace	—	—	—
25	128	—	—	pelo arruffato, emazie vacuolizzate, aniso- citosi	4.056.000	56	1,1
27	109	—	—	muore; ademi agli arti posteriori	—	—	—
RATTO N. 7.							
12	130	—	in carenza B ² da giorni 104	— —	6.400.000	95	1
16	148	—	—	— —	5.664.000	50	3,6
aprile							
9	176	0,01	—	— —	8.816.000	100	0,76
11	160	0,01	—	abbuttuto, caduta del pelo	4.500.000	60	0,95
13	—	0,01	—	blefarite bilaterale	—	—	—
14	145	—	somm. quot. estratto B ² ¹ / ₂ cmc.	— —	2.400.000	40	1,1
17	—	—	—	muore	—	—	—
RATTO N. 8.							
marzo							
11	141	—	in carenza B ² da giorni 103	— —	8.800.000	100	1
16	172	—	—	è meno vivace	4.856.000	75	1,3
21	168	0,01	—	— —	—	—	—
24	148	0,01	—	— —	—	—	—
25	154	0,005	—	abbattuto non mangia	3.656.000	50	1,2
29	136	—	—	emazie vacuolizzate	2.432.000	*	—

* La forte anemizzazione dell'animale non permette un esame completo.

Data	Peso gr.	Piro- dina 2‰ gr.	Trattamento	Osservazioni	Eritrociti	Hb ‰	Valore glo- bulare
<i>Segue RATTO N. 8.</i>							
aprile							
9	186	—	—	condiz. migliorate	2.448.000	70	2,5
17	186	—	—	— —	6.456.000	60	0,81
20	190	—	—	— —	5.640.000	50	0,75
27	—	0,01	—	— —	6.448.000	85	0,90
29	—	0,01	—				
maggio							
1	187	0,01	—	— —	2.200.000	50	2
5	182	—	—	— —	4.804.000	110	2
16	—	—	—				
<i>RATTO N. 9.</i>							
marzo							
12	144	—	in carenza B ² da giorni 104	— —	7.200.000	100	1
16	167	—	—	— —	6.416.000	70	0,78
aprile							
10	201	0,01	—	— —	5.608.000	80	1,04
13	—	0,01	—	— —	6.100.000	60	0,70
15	195	0,01	—	— —	3.240.000	50	
17	—	—	somm. quot. estratto B ² ¹ / ₂ cmc.	abbatt. non mangia	4.900.000	80	1,1
20	186	—	—	emazie vacuolizzate	8.000.000	105	0,94
26	184	—	—	vivace			
<i>RATTO N. 10.</i>							
marzo							
12	147	—	in carenza B ² da giorni 104	— —	8.800.000	700	1
16	177	—	—	— —	5.600.000	70	1,1
aprile							
11	220	0,01	somm. quot. estratto B ² ¹ / ₂ cmc.	— —	8.000.000	85	0,93
13	210	0,01	—	— —	5.056.000	55	1,1
14	—	0,01	—	— —	2.264.000	40	1,3
16	185	—	—	— —	4.832.000	100	1,8
20	193	—	—	— —	8.000.000	95	1,04
25	194	—	—	— —			

Data	Peso gr.	Piro- dina 2‰ gr.	Trattamento	Osservazioni	Eritrociti	Hb ‰	Valore glo- bulare
RATTO N. 11.							
marzo							
28	200	—	in carenza B ² da giorni 56	— —	8.872.000	90	1
aprile							
3	208	0,01			6.440.000	85	1,2
6	193	0,01	—	— —	5.656.000	70	
8	193	0,01	—	— —	4.800.000	60	1,2
10	179	0,01	—				
12	160	0,01					
13	151	—	—	abbatt., pelo arruffato	2.464.000	35	1,3
18	181	—	—	caduta del pelo	6.400.000	90	1,2
22	168	—	—	— —	6.416.000	95	1,3
27	196	—	—	— —	4.503.000	100	2,1
maggio							
7	225	—	—	mangia, è vivace	6.032.000	100	1,6
RATTO N. 12.							
marzo							
28	168	—	in carenza B ² da giorni 56	— —	7.400.000	100	1
aprile							
3	178	0,01			6.416.000	70	0,80
6	165	0,01	—	— —	4.272.000	70	1,2
8	166	0,01	—				
10	161	0,01					
12	—	0,01					
13	133	—	—	non mangia, abbattuto, caduta del pelo	1.600.000	40	1,7
18	146	—	—	— —	4.024.000	70	1,2
22	140	—	—	— —	4.864.000	90	1,3
27	156	—	—	condizioni migliorate	4.340.000	100	1,5
maggio							
7	195	—	—	è vivace	8.240.000	90	0,80
RATTO N. 13.							
aprile							
3	206	—	in carenza B ² da giorni 63	— —	8.832.000	90	1
7	205	0,01					
9	215	0,01	—	— —	4.540.000	80	1,7
11	210	0,01					
13	201	—	somm. quot. estratto B ² $\frac{1}{2}$ cmc.	abbatt. non mangia	2.456.000	50	2

Data	Peso	Piro- dina 2 ‰ gr.	Trattamento	Osservazioni	Eritrociti	Hb ‰	Valore glo- bulare
<i>Segue RATTO N. 13.</i>							
aprile							
16	—	—	—	— —	6.040.000	70	0,95
18	211	—	—	condiz. migliorate	8.008.000	115	1,3
27	216	—	—	— —	8.000.000	110	1,3
<i>RATTO N. 14.</i>							
3	142	—	in carenza B ² da giorni 63	— —	8.816.000	80	1
7	141	0,01	—	— —	3.200.000	50	1,1
9	134	0,01	—	— —	3.200.000	50	1,1
11	—	0,01	—	— —	3.200.000	50	1,1
13	120	—	somm. quot. estratto B ² ¹ / ₂ cmc.	abbatt. non mangia	1.608.000	45	3,08
18	138	—	—	— —	4.816.000	95	2,01
22	142	—	—	condiz. migliorate	7.400.000	100	1,3
27	141	—	—	— —	9.240.000	100	1,1
<i>RATTO N. 15.</i>							
3	161	—	in carenza B ² da giorni 63	— —	7.248.000	100	1
11	170	0,01	somm. quot. estratto B ² ¹ / ₂ cmc.	— —	6.408.000	85	0,99
13	—	0,01	—	— —	—	—	—
14	—	0,01	—	— —	—	—	—
16	143	—	—	— —	2.400.000	40	1,2
20	151	—	—	— —	4.064.000	85	1,5
mag gio							
7	170	—	—	— —	7.800.000	105	0,97
<i>RATTO N. 16.</i>							
aprile							
3	166	—	in carenza B ² da giorni 63	— —	8.832.000	100	1
11	164	0,01	somm. quot. estratto B ² ¹ / ₂ cmc.	abbattuto, perde il pe- lo blefarite occhio sinistro	8.016.009	100	1,1
13	—	0,01	—	— —	—	—	—
14	—	0,01	—	— —	—	—	—
16	153	—	—	condizioni migliorate, l'occhio sinistro tor- na normale	3.200.000	35	0,96

Data	Peso	Piro- dina 2 % gr.	Trattamento	Osservazioni	Eritrociti	Hb %	Valore glo- bulare
<i>Segue RATTO N. 16.</i>							
aprile							
20	158	—	—	— —	6.400.000	75	1,03
maggio							
7	149	—	—	= —	8.042.000	90	0,98
<i>RATTO N. 17 (controllo).</i>							
aprile							
10	206	—	inizia l'ali- mentaz. ca- renz. di B ² + somm. quot. estratto B ² ¹ / ₂ cmc.	— —	8.256.000	100	1
22	178	0,01	—	— —	7.224.000	100	1,01
24	—	0,01	—	non mangia			
27	—	0,01					
29	—	0,01					
maggio							
1	—	0,01	—	— —	4.456.000	60	1,01
5	152	—	—	abbattuto, pelo ar- ruffato			
6	—	—	—	muore; reperto au- topsico: nulla	3.224.000	45	1,1
<i>RATTO N. 13 (controllo).</i>							
aprile							
10	216	—	inizia l'ali- mentaz. ca- renz. di B ² + somm. quot. estratto B ² ¹ / ₂ cmc.	— —	8.872.000	80	1
22	185	0,01	—				
24	—	0,01					
27	—	0,01	—	abbatt. non mangia	6.800.000	85	1,2
29	—	0,01					
maggio							
1	—	0,01	—	— —	5.320.000	70	1,4
4	—	0,01	—	pelo arruffato			
5	142	—	—	— —	2.832.000	50	1,5
7	—	—	—	muore; reperto au- topsico: nulla			

RISULTATO DELLE RICERCHE.

I ratti n. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, alimentati con dieta carenzata del complesso vitaminico B² da oltre 3 mesi, morirono dopo 2-3 iniezioni a giorni alterni di pirodina, che veniva inoculata in proporzione di ctg. 1 per iniezione. La morte è avvenuta quando il reperto ematologico dava una quantità di globuli rossi variante da 2.400.000 (ratto n. 7) a 4.820.000 (ratto n. 3) per mm³ e una percentuale di emoglobina del 40-56 %. Ora, per precedenti ricerche, è noto che ratti albini ad alimentazione normale di consueto resistono ad un grado di anemia eguale, per quello che può desumersi dal numero dei globuli rossi e dal contenuto dell'emoglobina, a quello dei ratti in carenza, che invece sono morti. Si desume da ciò che questi animali hanno resistito, in confronto dei ratti normalmente alimentati, molto meno al processo di anemizzazione provocato da iniezioni di pirodina praticate nelle condizioni suddette.

Più interessante dal punto di vista della importanza del complesso vitaminico B² per la ricostruzione del sangue, ci sembra il confronto tra i dati dei ratti n. 8, 9 e 10, anch'essi a dieta carenzata da oltre 3 mesi.

Nel ratto n. 8, a seguito della somministrazione di ctg. 2,5 di pirodina fatta con iniezione sottocutanea in 3 volte a giorni alterni il numero dei globuli rossi è diminuito da 5 milioni a 2,5 milioni per mm³. Di poi le condizioni di anemia non hanno presentato nessun segno di miglioramento per 13 giorni; negli 8 giorni successivi, al contrario, gli eritrociti sono aumentati a 6,5 milioni.

L'emoglobina diminuì di quantità proporzionalmente inferiore a quella dei globuli rossi dimodochè il valore globulare salì a 2,5. In un secondo periodo di anemizzazione con ctg. 3 di pirodina i globuli rossi si ridussero in 5 giorni a 2,2 milioni; negli 11 giorni successivi erano di nuovo saliti a 4 milioni: in questo secondo tempo la ricostruzione del sangue si produsse più rapidamente.

Il ratto n. 9 fu anemizzato con ctg. 3 di pirodina: il numero dei globuli rossi scese da 6 milioni a 3.240.000. Negli 11 giorni successivi salì a 8 milioni. In questo periodo di ricostruzione era stato somministrato

all'animale l'estratto di lievito di birra contenente il complesso vitaminico B².

Durante l'anemizzazione il valore globulare era aumentato come in generale è avvenuto per tutti gli animali in esperimento.

Comportamento simile a quello dell'animale precedente ha avuto il ratto n. 10 al quale, dopo un periodo di carenza alimentare di vitamina B² di 104 giorni, fu somministrato l'estratto vitaminico sia nel periodo di anemizzazione che in quello di ricostruzione del sangue.

Confrontando i risultati delle ricerche in questi ultimi 3 ratti si rileva che l'animale n. 8 ha ricostruito il sangue dopo l'anemizzazione con un ritmo più lento di quello degli altri 2, presentando per di più un periodo di sosta all'acme dell'anemia prima che la ricostruzione del sangue potesse iniziarsi.

I ratti nn. 11 e 12 furono anemizzati dopo un periodo d'alimentazione carenzata di 56 giorni.

In questi animali l'anemizzazione richiese l'introduzione di ctg. 5 di pirodina invece dei ctg. 3 inoculati ai ratti precedenti i quali erano stati tenuti a carenza del complesso B² da maggior tempo.

I globuli rossi scesero in 10 giorni rispettivamente da 8.872.000 a 2.464.000 e da 7.400.000 a 1.600.000. La ricostruzione del sangue si fece lentamente nel ratto n. 11. Dopo un iniziale aumento si ebbe una nuova diminuzione: 24 giorni di tempo non furono sufficienti a che il numero dei globuli rossi tornasse al valore normale.

Nel ratto n. 12 si ebbe una ricostruzione del sangue, lenta nei primi 14 giorni, più rapida nei 10 giorni successivi: al termine di questi 2 periodi però la ricostruzione era avvenuta.

I ratti nn. 13 e 14 si anemizzarono prima dei precedenti e con ctg. 3 di pirodina anzichè con ctg. 5; i globuli rossi diminuirono rispettivamente da 8.830.000 a 2.456.000 e da 8.816.000 a 1.608.000. Con l'estratto di lievito contenente la vitamina B² gli animali poterono ricostruire, in soli 14 giorni la massa sanguigna.

Un comportamento simile hanno mostrato i ratti nn. 15 e 16 i quali, dopo una carenza alimentare di vitamina B² di circa 2 mesi, furono trat-

tati con pirodina (ctg. 2 in 2 giorni) con aggiunta alla dieta dell'estratto di vitamina B² sia durante l'anemizzazione che durante la ricostruzione del sangue.

In complesso dai reperti dei ratti a carenza del complesso vitaminico B² da oltre 3 mesi come da quelli dei ratti a carenza da solo 2 mesi, emerge che gli animali carenzati resistettero al processo di anemizzazione meno di quanto comunemente resistono gli animali normali, e che la deficienza alimentare della dieta somministrata potè essere corretta da un estratto di lievito di birra ottenuto con la tecnica normalmente eseguita per l'estrazione del complesso vitaminico B².

Il fattore contenuto nell'estratto suddetto agì peraltro nella fase di ricostruzione del sangue e fu inattivo nella fase di anemizzazione. Prendendo in esame quest'ultima fase, non si osservano differenze tra gli animali carenzati nè rispetto alla quantità di pirodina somministrata nè rispetto al grado di anemizzazione raggiunto e al tempo richiesto per raggiungerlo.

Deve ritenersi perciò che il fattore utile dovette agire impegnandosi in qualche processo di sintesi importante per il sangue. Se si tiene conto che la ricostruzione dell'emoglobina si fece sempre più rapidamente che non quella degli stromi degli eritrociti, si può pensare che soprattutto per la ricostruzione di quest'ultimi il fattore in parola abbia importanza.

In complesso dunque le presenti ricerche, mentre contribuiscono a ribadire l'importanza di estratti contenenti il complesso B² per la ricostruzione del sangue, lasciano del tutto impregiudicata la questione se la sostanza attiva sia da ritenere partecipe del complesso B² e se, in questo caso, sia da identificare col fattore antipellagroso con quello dell'accrescimento o coincida invece col fattore estrinseco di Castle.

I risultati delle ricerche presenti si possono così riassumere:

Ratti alimentati da 2-3 mesi con dieta carenzata del complesso vitaminico B² hanno ricostruito la massa sanguigna con minore rapidità dei ratti che ebbero la stessa dieta alimentare con l'aggiunta però di un estratto di lievito di birra contenente il complesso suddetto.

RIASSUNTO

Premesse le citazioni di ricerche precedenti gli AA. riferiscono i risultati di esperimenti eseguiti intorno alla ricostruzione del sangue di ratti albinici alimentati con dieta priva del complesso B² e anemizzati con iniezioni di pirodina: osservano che gli animali tenuti a dieta carenzata resistono all'azione anemizzante meno di quelli alimentati con vitto normale e che un'azione favorevole sulla ricostruzione del sangue è esercitata da estratti di lievito di birra eseguiti con la tecnica utilizzata da Gjörgy per la separazione del complesso B².

Roma. — Istituto di Sanità Pubblico - Laboratorio di biologia.

BIBLIOGRAFIA

(*) Parte dei risultati sperimentali del presente lavoro furono elaborati dal dott. MICHELANGIOLI per la sua tesi di laurea.

M. I. SMITH - « J. of biol. Chem. », 100, 222-235 (1933).

TH. WAGNER-JAUREGG, H. RAUEN und F. MÖLLER - « Hoppe Seylers Z. », 228, 273-276 (1934).

M. LASSEN and H. KRIEGER LASSEN - « Amer J. Med », 188, 461-472 (1934).

T. DIEHL-J. KUNHAU - « Deutsches Arch. f. Klin. Med. », 176, 149-153 (1933).

D. K. MILLER-C. P. RHOADS - « J. Clin. Investigation », 14, 153-172, March 1935.

C. J. STUCKY-E. BRAND - « Proc. Soc. Exp. Biol Med. », 30, 1404, 5 June 1933.

C. P. RHOADS-D. K. MILLER - « Exper. Med. », 58, 585-605, novembre 1933.

— « Science (N. Y.) », 1, 159 (1935).
