

63. Leonardo TENTORI e Girolamo VIVALDI. — L'azione dell'acido folico sulla sindrome da carenza B totale nel piccione.

Riassunto. — Gli Autori, sperimentando su piccioni a dieta orizantica e valutando i risultati con il calcolo del quoziente beri-berico, concludono che il valore di questo quoziente non è modificato dalla somministrazione di acido folico.

Résumé. — Les AA. étudient l'action de l'acide folique sur le syndrome polynévritique provoqué dans le pigeon par la diète de riz, évaluant les résultats obtenus par le calcul du quotient béribérique suivant la formule :

$$Q_b = \frac{C}{P}$$

où C représente la consommation totale des substances métabolisées, calculée par addition de la perte en poids du corps avec la différence entre la quantité de riz ingérée et celle rejetée, et P représente le poids initial du corps. Cette méthode permet d'éviter les nombreuses erreurs d'évaluation, auxquelles on peut être conduit par les variations de la sensibilité individuelle des animaux en expériment à la carence provoquée. On a effectué des essais croisés afin d'obtenir pour chaque animal les données relatives tant aux expériences avec la simple diète de riz qu'à celles où à la diète de riz on accouple des administrations d'acide folique par voie intramusculaire à la dose de 50 γ par jour.

Les résultats obtenus démontrent que l'acide folique est inactif, en remplacement de la vitamine B₁, comme moyen préventif du syndrome polynévritique béribérique provoqué dans le pigeon par la diète de riz.

Summary. — The AA. study the action of folic acid on the syndrome of polyneuritis produced in the pigeon by a rice diet, estimating the results obtained by a calculation of the beriberic quotient according to the formula

$$Q_b = \frac{C}{P}$$

where C is the total consumption of metabolized substances, calculated by adding together the loss in body weight and the difference between the ingested and the vomited rice, and P is the initial body weight. This method makes it possible to avoid those numerous errors in valuation, to which one can be led by the variations in individual sensitivity of the animals tested to the experimental vitamin deficiency. Cross tests have been performed in order to obtain for each animal the data relating to tests made with a simple rice diet and to tests with a rice diet supple-

mented with intramuscular administrations of folic acid at the dose of 50 γ each day.

The results obtained show that folic acid is inactive, as a substitute for vitamin B₁, to prevent the polyneuritic beriberic syndrome in the pigeon consequent on a rice diet.

Zusammenfassung. — Die Verfasser beobachten die Wirkung der Folsäure auf das durch Reisdiet hervorgerufene polineuritische Syndrom bei der Taube und werten die erhaltenen Ergebnisse mit der Berechnung des Beri-Beri Quozienten nach der folgenden Formel aus:

$$Q_b = \frac{C}{P}$$

wo C den gänzlichen Verbrauch der metabolisierten Substanzen darstellt und durch Addition des Körpergewichtsverlustes und der Differenz zwischen eingenommenem und erbrochenem Reis errechnet wird. P ist das initiale Körpergewicht. Diese Methode erlaubt es, die zahlreichen Wertungsfehler zu beseitigen, in die man leicht durch die Schwankungen der individuellen Sensibilität der Versuchstiere gegen den hervorgerufenen Mangel verleitet werden kann. Es wurden gekreuzte Proben gemacht, um von jedem Tier die Daten bezüglich des Versuchs mit Reisdiet und mit Reisdiet, welche durch intramuskuläre Einspritzungen von Folsäure-Dosen (50 γ täglich) ergänzt wurde, zu erhalten. Die Ergebnisse zeigen, dass die Folsäure das Vitamin B₁ als Vorbeugungsmittel des polineuritischen Beri-Beri Syndroms, welches bei der Taube durch Reisdiet hervorgerufen wird, nicht ersetzen kann.

Nel 1947 Busnel, Chauchard, Mazoué e Polonovski ⁽¹⁾ comunicarono di aver messo in evidenza una azione curativa dell'acido folico e della xantopterina sui sintomi da carenza di vitamina B₁ provocati nel piccione con la dieta B di Randoin e Lecocq. Questo lavoro veniva a confermare la analogia di attività che, secondo gli autori citati, esiste fra alcuni fattori del gruppo B e le xantopterine. E' infatti del 1943 l'osservazione ⁽²⁾ che la fluorescianina, pigmento xantopterinico estratto dalle scaglie di ciprinidi, ha la proprietà di guarire nel ratto sia i sintomi di avitaminosi B₂ che quelli di vitaminosi B₁. Successivamente nel 1944, la fluorescianina e varie pterine sintetiche sono state sperimentate nel piccione e nel ratto carenti di vitamina B₁ dopochè, con il testo di Lwoff e Dusi sulla « Politomella caeca », queste sostanze erano state dimostrate

⁽¹⁾ C. R. Ac. Sc., 224, 237 (1947).

⁽²⁾ BUSNEL, CHAUCHARD, MAZOUÉ, PESSON e POLONOWSKI, C. R. Ac. Sc., 217, 185 (1943).

esenti da tiamina (³⁻⁴). Anche queste esperienze confermarono che le pterine esaminate hanno una azione curativa degli stati carenziali, permettendo agli Autori di affacciare l'ipotesi che fosse possibile agli animali carenti l'utilizzazione di queste sostanze nel loro metabolismo intermedio per la sintesi della vitamina B₁ data la affinità di struttura chimica tra il nucleo piridinico in esse contenuto ed il nucleo della aneurina. Tale analogia di azione venne anche confermata dall'antagonismo di una pterina sintetica con la tiroxina, antagonismo che è comune alle vitamine B₁ e B₂ (⁵). Uno studio più esauriente fu compiuto nel 1946 da Busnel, Chauchard, Mazoué e Polonovski (⁶) sulla azione di varie pterine sintetiche nel riportare alla norma le modificazioni della cronassia, che si osservano nei ratti e nei piccioni nel corso delle avitaminosi B₁ e B₂ e dell'acidosi sperimentale, confermando così ancora una volta che queste sostanze hanno una azione analoga a quella delle suddette vitamine ma non possono sostituire altri fattori del gruppo B quali l'amide nicotica, l'acido pantotenico e l'adenina.

Nel presente lavoro ci siamo proposti di studiare l'azione dell'acido folico sui sintomi di polineurite ottenuti nel piccione con la classica dieta orizanica attenendoci alle condizioni sperimentali fissate da Amantea (⁷) e valutando i risultati con la determinazione del quoziente beri-berico (⁸) onde ovviare ai numerosi errori di valutazione ai quali si può esser indotti dalle variazioni della sensibilità individuale degli animali in esperimento alla carenza provocata.

TECNICA SPERIMENTALE

Otto piccioni, del peso di circa 350 grammi, sono stati preventivamente preparati con la somministrazione di g 2,5 di lievito di birra attivo pro die per quattro giorni. Assicurata così una riserva iniziale massima di fattore B₁ per ciascun animale, è stata iniziata senz'altro la dieta orizanica, imbeccando i piccioni con una razione giornaliera di g 20 di riso brillato, lavato e tenuto in termostato per otto ore a 120° C, integrata da due gocce di olio di fegato di merluzzo. Durante l'esperimento sono stati registrati giornalmente la dose di riso somministrata, la quantità ponderale di esso eventualmente vomitata e le variazioni del peso corporeo

(³) POLONOWSKI, Busnel, CHAUCHARD, MAZOUÉ, PESSON e VIEILLEFOSSE, C. R. Ac. Sc., 218, 609 (1944).

(⁴) BUSNEL, CHAUCHARD, MAZOUÉ, PESSON, VIEILLEFOSSE, POLONOWSKI, C. R. Soc. Biol., 138, 171 (1944).

(⁵) BUSNEL, CHAUCHARD, MAZOUÉ e POLONOWSKI, C. R. Soc. Biol., 139, 139 (1945).

(⁶) C. R. Soc. Biol., 140, 50 (1946).

(⁷) Atti Accad. Naz. Lincei, 18, 317 (1933).

(⁸) AMANTEA, Atti Accad. Naz. Lincei, 18, 399 (1933).

e della temperatura cloacale. Dopo circa due settimane di esperimento sono comparsi in tutti gli animali i primi sintomi di avitaminosi e si è iniziata la somministrazione di vitamina B₁ sintetica, di lievito di birra e della dieta normale. Trascorso un congruo periodo di tempo, quando i piccioni erano tornati al peso normale, furono di nuovo alimentati, secondo la tecnica precedente, con riso brillato aggiungendo, però, la somministrazione giornaliera per via intramuscolare di acido folico sotto forma di folato sodico Squibb alla dose di 50 gamma per animale.

I quozienti beri-berici sono stati calcolati secondo la formula:

$$Q_b = \frac{C}{P}$$

dove C rappresenta il consumo complessivo, calcolato sommando alla perdita del peso corporeo la differenza tra il riso ingerito e quello vomitato, e P il peso corporeo iniziale.

Come sintomi iniziali del beri-beri sono stati ricercati i «sintomi primari» di Amantea consistenti in paresi e paralisi motorie e disturbi sensoriali. Per metterne in evidenza l'insorgere, oltre alla osservazione scrupolosa degli animali ed alla ricerca del riflesso plantare la cui scomparsa è un utile segno premonitore, venivano utilizzati gli accorgimenti della rotazione e del lavoro, consistenti, rispettivamente, nell'imprimere all'animale pochi rapidi movimenti di rotazione o nel costringerlo a compiere un moderato lavoro muscolare, mettendosi in evidenza, nel primo caso, eventuali fenomeni a tipo labirintico e nel secondo le paresi degli arti.

RISULTATI SPERIMENTALI E DISCUSSIONE

I risultati ottenuti sono sintetizzati nella tabella 1, l'andamento medio della curva ponderale è rappresentato dal grafico 1.

Non abbiamo riportato i dati che si riferiscono alle temperature cloacali poichè abbiamo osservato che queste non subiscono variazioni degne di nota e sono soggette a numerose cause di errore inerenti soprattutto alla tecnica di prelevamento, anche quando ci si attenga scrupolosamente alla norma di introdurre il bulbo del termometro sempre alla stessa profondità nella cloaca.

In questo lavoro non abbiamo eseguito misure della cronassia; d'altra parte però le variazioni di essa non possono essere prese come criterio specifico per la valutazione dell'inizio della carenza poichè, come è stato dimostrato da Chauchard B. e P., Mazoué e Lecocq ⁽⁹⁻¹⁰⁾, esse possono essere

(9) C. R. Soc. Biol., 137, 264 (1943).

(10) C. R. Soc. Biol., 137, 402 (1943).

TABELLA I.

Numero piccioni	Trattamento	Giorni di esperimento	Peso iniziale	Peso finale	Peso perduto	Riso ingerito	Riso vomitato	Alimento elaborato	Quoziente beri-berico
41	senza acido folico con acido folico	18	352	260	92	320	144	176	0,76
		18	367	295	72	280	70	210	0,76
42	senza acido folico con acido folico	12	365	324	41	220	34	186	0,62
		12	335	310	25	220	25	195	0,65
43	senza acido folico con acido folico	11	303	269	34	180	32	148	0,60
		14	340	276	64	260	44	216	0,82
46	senza acido folico con acido folico	18	367	260	107	260	97	163	0,73
		20	382	331	51	320	102	218	0,70
47	senza acido folico con acido folico	14	360	312	48	260	46	214	0,72
		15	332	306	26	280	57	223	0,75
48	senza acido folico con acido folico	17	361	290	71	280	102	178	0,68
		16	364	282	82	220	56	164	0,67
49	senza acido folico con acido folico	15	325	278	47	280	86	194	0,74
		11	290	242	48	200	77	123	0,50
50	senza acido folico con acido folico	16	370	338	32	300	34	266	0,80
		14	337	303	34	180	13	167	0,59

indotte anche da sostanze acidificanti, e d'altra parte variazioni simili della cronassia si presentano anche nel corso della avitaminosi A ⁽¹¹⁾. E' intuitivo che nell'organismo di animali tenuti a dieta carenzata e che presentano frequentemente vomito si verifichino, in relazione con stati momentanei di deficienza energetica e con variazioni di sensibilità individuale, variazioni del pH che possono alterare i valori della cronassia inficiando grandemente l'attendibilità di essa quale rivelatrice dell'inizio di uno stato carenziale e come dato sulla base del quale poter valutare l'attività curativa di una sostanza. Abbiamo scelto invece quale criterio per mettere in evidenza l'attività antineuritica dell'acido folico, il calcolo del quoziente beri-berico nello stesso animale trattato con dieta orizana semplice e con dieta orizana integrata dalla somministrazione di questo principio, poichè è questo un dato che presenta solo lievi oscillazioni nello stesso piccione, purchè si operi con le stesse modalità sperimentali.

I quozienti beri-berici relativi alle due prove incrociate nello stesso animale non presentano differenze degne di nota.

Abbiamo è vero osservato delle notevoli variazioni del quoziente beri-berico nei piccioni n. 43-49-52, ma in questi animali il primo esperimento è stato effettuato quando ancora essi non avevano raggiunto il

(11) LECOCQ, CHAUCHARD e MAZOUÈ, Bull. Soc. Chim. Biol., 26, 175 (1944).

completo sviluppo, come è dimostrato dalla notevole differenza dei pesi iniziali delle due prove (è da tenere presente che nei piccioni n. 49 e 52 la prima prova è stata eseguita con la somministrazione di acido folico). In questi ultimi animali i dati ottenuti non sono quindi ricavati da prove condotte con le stesse modalità sperimentali poichè è noto che gli organismi in accrescimento hanno un metabolismo esaltato che provoca, nel caso specifico, un più rapido consumo delle riserve di fattori del complesso B e quindi una diminuzione del quoziente beriberico. Del resto l'esame delle curve della media dei pesi nelle prove incrociate, praticamente sovrapponibili, ed il tempo trascorso dall'inizio dei vari esperimenti all'insorgenza dei sintomi primari di polineurite, sensibilmente uguale per ciascun animale in esperimento, dimostrano la nessun efficacia dell'acido folico nel prevenire l'insorgere della sindrome da carenza di vitamina B₁ nel piccione.

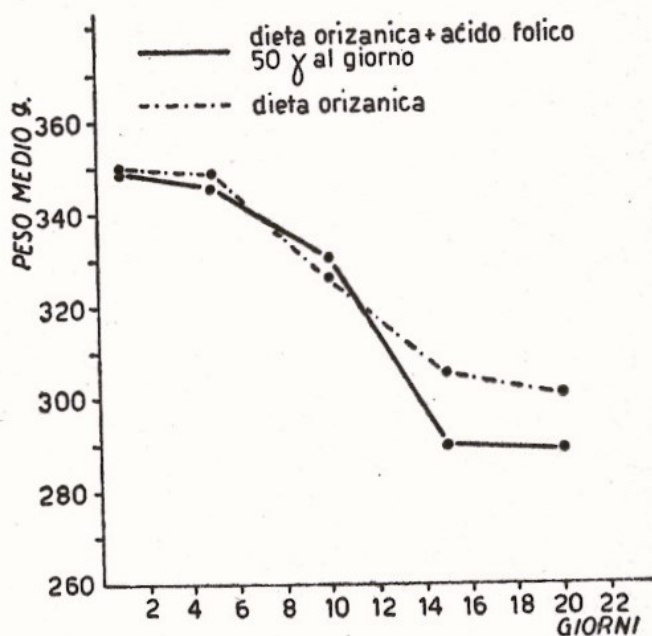


GRAFICO 1.

Non abbiamo riportato nella tabella i dati relativi ai piccioni n. 44-45-50-51 perchè in questi non è stato possibile effettuare la prova incrociata, essendo essi venuti a morte subito dopo la prima prova effettuata, nonostante la somministrazione di vitamina B₁ e di lievito di birra a scopo curativo dei sintomi di polineurite che essi presentavano. Di questi animali il n. 51 aveva ricevuta la dieta orizantica ed il trattamento con acido folico; evidentemente la sindrome da polineurite da noi assunta come indice dell'inizio della malattia da carenza di B₁ era tale, se non curata tempestivamente, da condurre a morte tutti gli animali.

Dall'esame dei risultati appare evidente che i quozienti beriberici sono stati pressochè costanti per lo stesso animale nelle due prove e indipendentemente dalla somministrazione di acido folico. Pertanto tale sostanza si dimostra inattiva nel sostituire la vitamina B₁, come preventivo dei sintomi classici provocati nel piccione dalla dieta orizantica.

Roma. — Istituto Superiore di Sanità - Laboratorio di Biologia. 2 marzo 1949.