

61. Leonardo TENTORI e Girolamo VIVALDI. — **Attività terapeutica della associazione xantopterin-acido p-aminobenzoilglutamico nella anemia macrocitica sperimentale del ratto.**

Riassunto. — E' stata ottenuta una carenza cronica di acido folico nel ratto alimentandolo con una dieta sintetica purificata ed addizionata con l'1⁰/₁₀₀ di streptomycina.

Agli animali carenti sono stati somministrati per via parenterale acido p-aminobenzoilglutamico, xantopterin ed una miscela di queste due sostanze in rapporto equimolecolare rispetto alla molecola dell'acido folico. L'acido p-aminobenzoilglutamico non ha dimostrato alcuna attività curativa, mentre la xantopterin ha prodotto una policitemia aspecifica di modico grado. La somministrazione contemporanea di xantopterin e di acido p-aminobenzoilglutamico esplica una attività curativa completa e specifica, quasi sovrapponibile a quella dimostrata dall'acido folico, sulla sindrome ematologica del ratto reso carente di esso.

Résumé. — On a obtenu une carence chronique d'acide folique dans le rat, le nourrissant par une diète synthétique purifiée et additionnée d'1⁰/₁₀₀ de streptomycine.

Aux animaux chez qui la carence a été produite, on a administré, par la voie parentérale, de l'acide paraaminobenzoilglutamique, de la xantoptérine et un mélange de ces deux substances en rapport équimoléculaire par rapport à la molécule de l'acide folique. L'acide paraaminobenzoilglutamique n'a révélé aucune activité curative, tandis que la xantoptérine a produit une polycytémie a-spécifique à un degré modéré. L'administration simultanée de xantoptérine et d'acide paraaminobenzoilglutamique manifeste une activité curative complète et spécifique, se superposant presque à celle montrée par l'acide folique sur le syndrome hématologique du rat chez qui on en a provoqué la carence.

Summary. — The Authors have obtained a chronic folic acid deficiency in rats through a purified synthetic diet to which 1⁰/₁₀₀ of streptomycin was added. They have moreover injected the animals in experiment with p-aminobenzoylglutamic acid and xanthopterin separately, and both these substances added together, with the same molecular ratio existing in folic acid.

P-aminobenzoylglutamic acid has shown no activity, while xanthopterin has produced a non specific polycythemia of mild degree.

The simultaneous administration of xanthopterin and p-aminobenzoyl-

glutamic acid shows a curative and specific action which is almost analogous to the one determined by folic acid on the hematological syndrome of the rat in folic acid deficiency.

Zusammenfassung. — Durch Verabreichung von gereinigter und mit 1⁰/₀₀ Streptomycin versetzter Diät wurde ein chronischer Mangel an Folinsäure in der Ratte hervorgerufen.

Den auf diese Weise behandelten Tieren wurde auf parentalem Wege Para-aminobenzoyl-glutaminsäure, Xantopterin, sowie ein Gemisch dieser beiden Substanzen in equimolekularem Verhältnis zum Folinsäuremolekül verabreicht. Durch Para-aminobenzoyl-glutaminsäure wurde keine Heilwirkung erzielt, während Xantopterin eine mässige aspezifische Polycythemie zur Folge hatte. Die gleichzeitige Verabreichung von Xantopterin und Para-aminobenzoyl-glutaminsäure hatte eine vollständige und spezifische Heilwirkung, die nahezu der Wirkung der Folinsäure auf die hämatologischen Symptome der an dieser Substanz mangelnden Ratte entspricht.

In un lavoro precedente ⁽¹⁾ è stata studiata l'anemia sperimentale del ratto carente di acido folico ed è stato riferito dell'attività di alcune sostanze ad azione antianemica. Continuando il nostro studio su questo problema abbiamo esaminato l'attività di alcuni composti che, nella loro costituzione chimica, presentano un nucleo che fa parte della molecola dell'acido folico; i risultati di questi esperimenti sono esposti nel presente lavoro.

TECNICA SPERIMENTALE.

Un gruppo di ratti albini in accrescimento, di sesso maschile, del peso di circa 40 grammi provenienti dall'allevamento del nostro Istituto sono stati alimentati con la dieta sintetica II, priva di acido folico, la cui composizione è riportata nel precedente lavoro. In essa oltre ai componenti fondamentali ed al supplemento di tutte le sostanze ad azione vitaminica meno l'acido folico, veniva aggiunto, quale inibitore della flora intestinale, l'1⁰/₀₀ di streptomina. Per lo studio dei sintomi carenziali è stata seguita la tecnica precedentemente descritta. Quando dopo circa 180 giorni di dieta si sono manifestati chiari segni ematologici di una carenza di acido folico negli animali in esperimento, ne sono stati selezionati 20,

(¹) L. TENTORI-G. VIVALDI, Rend. Ist. Sup. Sanità - XIV, 194 (1951).

i quali sono stati suddivisi in quattro gruppi. Su questi gruppi venne saggiata la attività curativa delle seguenti sostanze somministrate per via parenterale nelle dosi specificate per ciascun animale:

1° Gruppo — Acido pteroilglutamico (*) alla dose di 200 γ alla settimana.

2° Gruppo — Acido p-aminobenzoilglutamico (**) alla dose di 300 γ alla settimana corrispondenti a mg. 1,5 circa per Kg. di peso corporeo.

3° Gruppo — Xantoptarina (***) alla dose di 200 γ alla settimana corrispondenti a mg. 1 circa per Kg. di peso corporeo.

4° Gruppo — Xantoptarina alla dose di 200 γ più acido p-aminobenzoilglutamico alla dose di 300 γ alla settimana.

RISULTATI E DISCUSSIONE.

I risultati ottenuti sono riportati nella Tabella I e nei grafici da 1 a 4.

Poichè nel precedente lavoro si era osservato che è possibile ottenere una carenza di acido folico nel ratto aggiungendo alla dieta, quale inibitore della flora intestinale, la streptomycina alla dose di gr. 1 per mille, nel presente lavoro abbiamo seguito questo procedimento. I risultati ottenuti confermano che è più conveniente adoperare questo antibiotico perchè gli animali presentano un accrescimento più regolare, si può evitare la nota azione antitiroidea esercitata dai composti solfonamidici, e si può operare su animali in migliori condizioni di resistenza alle malattie intercorrenti. Se inoltre si valuta il grado di carenza raggiunto dagli animali alimentati in queste condizioni è evidente l'osservazione che essi presentano un quadro ematologico ugualmente caratteristico ma meno grave di quello che si manifesta colla somministrazione di composti solfonamidici. I valori della concentrazione dei globuli rossi per mm^3 . di sangue circolante oscillano fra i quattro e i cinque milioni, mentre il valore globulare si mantiene su cifre piuttosto elevate al di sopra della norma; tali valori non presentano oscillazioni di rilievo anche prolungando la osservazione oltre i 180 giorni circa, necessari all'instaurarsi di una chiara forma carenziale, per un periodo di tempo fino a 300 giorni dall'inizio dell'espe-

(*) Folato di Sodio Squibb.

(**) Acido p-aminobenzoilglutamico Lepetit.

(***) Xantoptarina Roche.

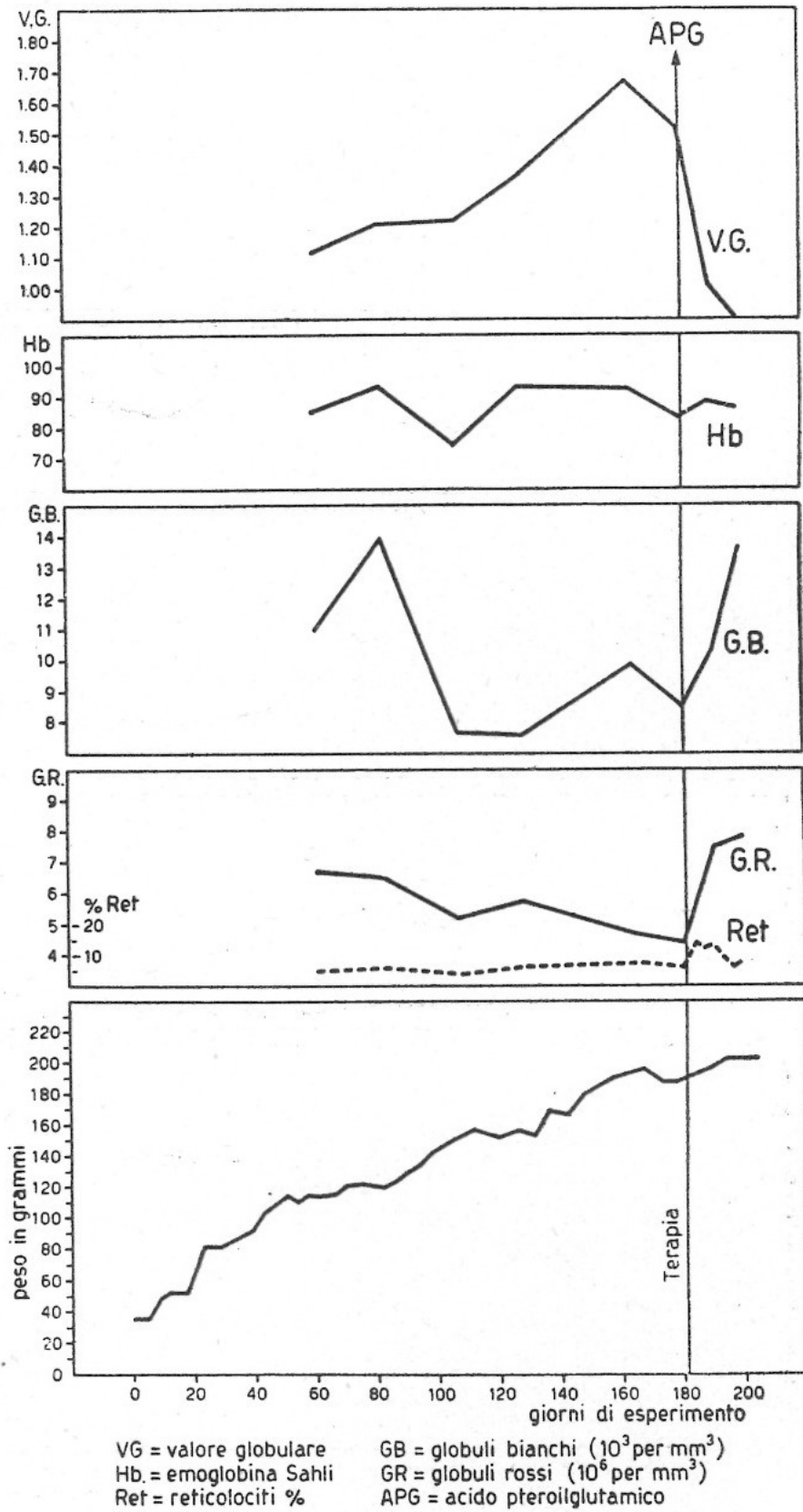


Fig. 1

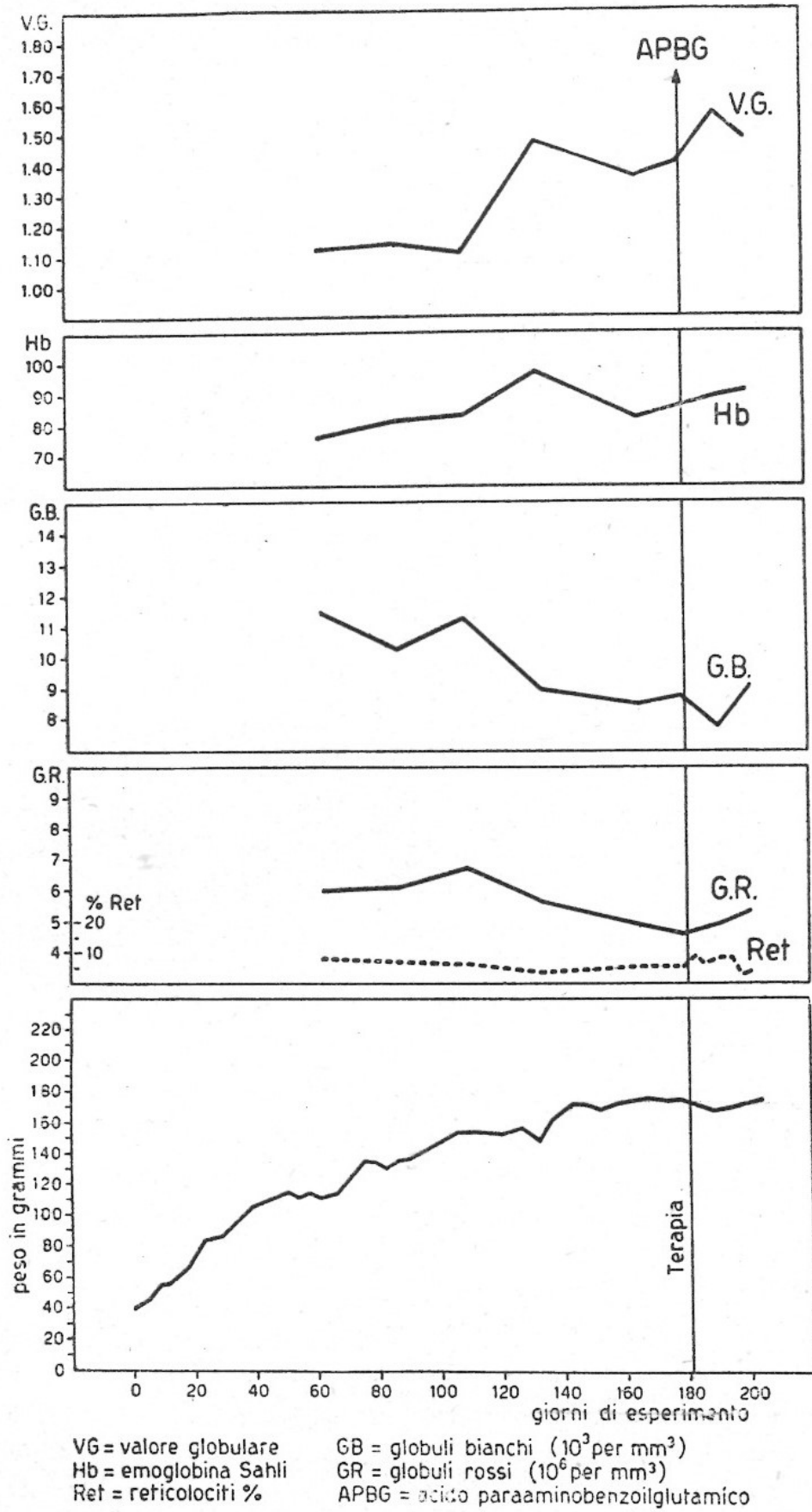


Fig. 2

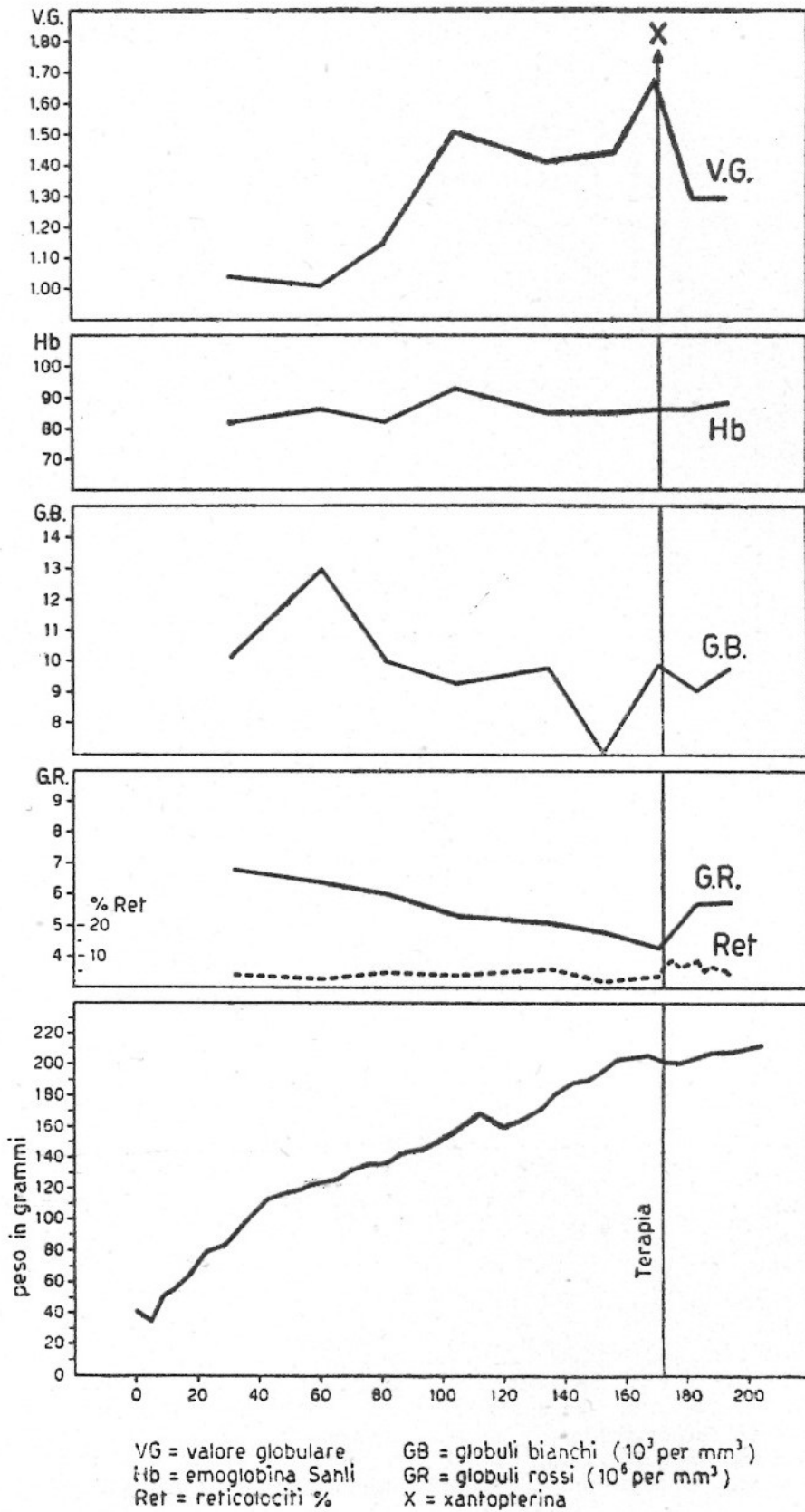


Fig. 3

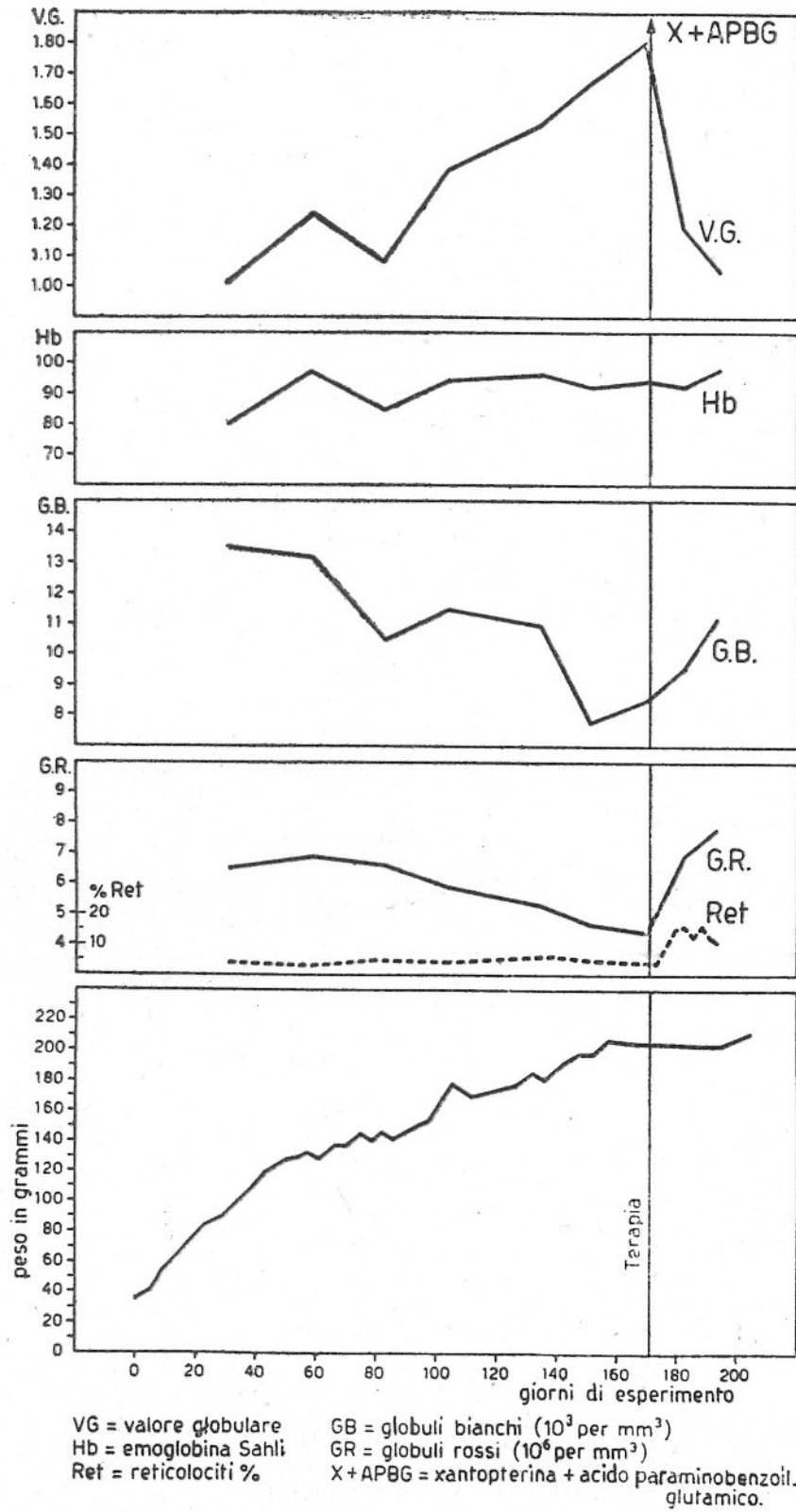


Fig. 4

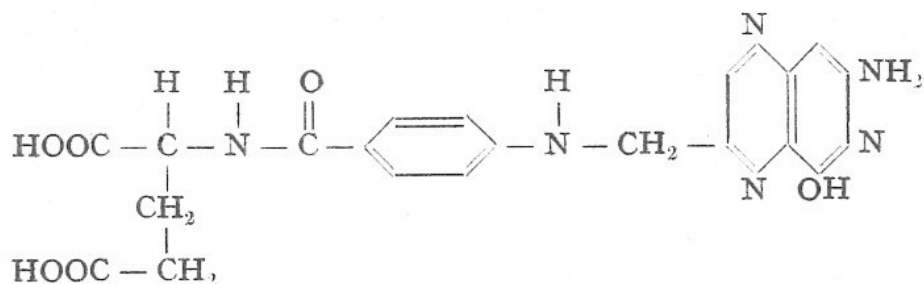
TABELLA I

GRUPPI	PRIMA DEL TRATTAMENTO				DOPO IL TRATTAMENTO			
	Globuli rossi 10 ⁵ per mm ³	Globuli bianchi 10 ³ per mm ³	Emoglobina % (Sahli)	Valore globulare	Globuli rossi 10 ⁵ per mm ³	Globuli bianchi 10 ³ per mm ³	Emoglobina % (Sahli)	Valore globulare
I	4,4 ± 0,42	8,5 ± 1,07	83 ± 9,00	1,52 ± 0,002	7,8 ± 0,22	3,6 ± 1,80	82 ± 2,00	0,90 ± 0,001
II	4,6 ± 0,63	8,8 ± 1,00	86 ± 9,6	1,40 ± 0,01	5,3 ± 0,93	9,1 ± 0,77	91 ± 10,00	1,48 ± 0,01
III	4,3 ± 0,05	8,9 ± 0,77	86 ± 4,80	1,67 ± 0,14	5,7 ± 0,26	8,8 ± 0,94	88 ± 5,12	1,29 ± 0,09
IV	4,4 ± 0,34	8,5 ± 0,34	94 ± 6,24	1,81 ± 0,01	7,8 ± 0,02	11,2 ± 0,06	97 ± 9,05	1,07 ± 0,54

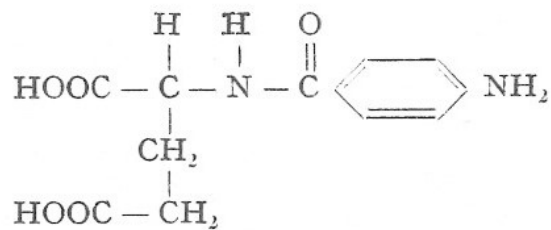
rimento (°). La persistenza di un quadro ematico anemico, che rimane stazionario e non si modifica anche prolungando di molto la osservazione, fa supporre che questi animali si trovino in uno stato di equilibrio nella loro carenza cronica. E' possibile che tale condizione sia mantenuta da una sintesi di acido folico ad opera della flora intestinale, in quantità sufficiente ad evitare l'instaurarsi di lesioni midollari tali da provocare la morte. E' quindi probabile che la streptomycina non sia capace di inibire completamente i microorganismi responsabili della sintesi dell'acido folico, o che, durante il corso dell'esperimento, si sviluppi una resistenza verso l'antibiotico nei microrganismi anzidetti. Nel tratto intestinale degli animali avverrebbe in tal modo una sintesi del fattore in quantità subottimale.

Ci sembra pertanto che l'uso della streptomycina, oltre a presentare i vantaggi di cui abbiamo parlato più sopra, sia particolarmente adatto quando si voglia studiare la carenza cronica di questo fattore nel ratto. Si può così evitare di ricorrere alla tecnica usata, a questo scopo, da Kodicek e Carpenter (2), consistente nell'aggiungere periodicamente piccole dosi di acido folico alla dieta contenente prodotti solfonamidici.

Il primo gruppo di ratti, curati con acido folico, è stato istituito per verificare se i sintomi patologici presentati dagli animali in esperimento fossero esclusivamente dovuti alla carenza cronica di questo fattore. I risultati ottenuti e rappresentati nel grafico 1 confermano questo assunto



Acido pteroilglutamico (acido folico)



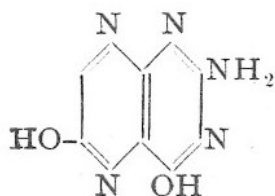
Acido p - aminobenzoilglutamico

(°) Tale osservazione si riferisce ad animali alimentati con la dieta II e seguiti ematologicamente per 10 mesi.

(2) BLOOD V/6, 522-543 (1950).

e ad essi pertanto ci siamo riferiti nel valutare l'attività delle altre sostanze prese in esame.

Come risulta evidente dalle formule di struttura che vengono riportate le sostanze con le quali sono stati trattati gli animali in esperimento, presentano nella loro struttura chimica un nucleo che fa parte della mo-



Xantopterin

lecola dell'acido folico. Della xantopterin era stata posta in evidenza da Norris e Majnarich ⁽³⁻⁴⁾ l'azione policitemica che essa esplica sul ratto ad alimentazione normale e carenziata. Nel precedente lavoro è stata confermata tale azione policitemica che però non si accompagna ad una normalizzazione dell'emoglobina, del valore globulare e della macrocitosi. Non ci risulta invece che sia mai stata presa in esame l'attività dell'acido p-aminobenzoilglutamico sul ratto carente dell'acido folico. Inoltre l'associazione di queste due sostanze somministrate in soluzioni per via parenterale essendo i due componenti in rapporto equimolecolare rispetto alla molecola dell'acido folico è stata da noi precedentemente sperimentata.

L'analisi dei risultati dimostra che la somministrazione della xantopterin provoca un certo aumento del numero dei globuli rossi per mm³. di sangue pur non essendo capace di riportare questo valore nei limiti della normalità; anche il valore globulare si mantiene piuttosto elevato mentre il numero dei leucociti rimane pressochè invariato. Si tratta in sostanza di una attività completamente aspecifica che, pur alleviando l'anemia presentata dagli animali carenti, non ne modifica le caratteristiche peculiari.

L'acido p-aminobenzoilglutamico non esplica alcuna attività: i valori ematologici esaminati, infatti, non subiscono variazioni degne di nota. La miscela di xantopterin ed acido p-aminobenzoilglutamico, ha una attività vitaminica completa seppur meno rapida di quella esplicata dall'acido folico; tutti i dati ematologici studiati vengono riportati alla norma.

Il comportamento dei reticolociti si accorda con i risultati che sono stati fin qui esposti: mentre infatti negli animali trattati con la sola xantopterin e con il solo acido p-aminobenzoilglutamico non si osserva una crisi reticolocitaria apprezzabile, questa è significativa nei gruppi trattati

⁽³⁾ Am. J. Physiol. 152, 179 (1948).

⁽⁴⁾ Am. J. Physiol. 153, 133 (1948).

con l'acido folico e con la miscela di xantopterina più acido p-aminobenzoilglutamico. Evidentemente gli animali trattati con questa miscela hanno la capacità di utilizzare come principio attivo il complesso di due sostanze delle quali una ha attività aspecifica e l'altra nessuna azione. E' molto probabile che nel loro organismo abbia luogo una sintesi dell'acido folico partendo dalle sostanze che della molecola di esso sono le componenti.

CONCLUSIONI.

1°) L'aggiunta di streptomina nell'ammontare dell'10/00 ad una dieta purificata è capace di provocare nel ratto una carenza cronica di acido folico.

2°) L'azione policitemica della xantopterina si è confermata aspecifica per questa carenza del ratto.

3°) L'acido p-aminobenzoilglutamico non dimostra alcuna attività sui sintomi ematologici presentati dal ratto carente di acido folico.

4°) La somministrazione contemporanea per via parenterale di xantopterina e di acido di p-aminobenzoilglutamico in rapporto equimolecolare rispetto alla molecola dell'acido folico, esplica una attività curativa completa e specifica, quasi sovrapponibile a quella dimostrata dall'acido folico sulla sindrome ematologica del ratto reso carente di esso.

Roma - Istituto Superiore di Sanità - Laboratorio di Biologia.

