

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA NAZIONALE
DEI LINCEI

ANNO CCCXX

1923

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXXII.

2° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
PROPRIETÀ DEL DOTT. PIO BEFANI

1923

Farmacologia. — *Ricerche farmacologiche sul ferro: V. Solfuro ferroso colloidale preparato in presenza di gelatina* ⁽¹⁾. Nota del Socio L. SABBATANI ⁽²⁾.

II.

ESPERIENZE SUI CONIGLI CON INIEZIONI ENDOVENOSE.

Per queste esperienze ho adoperato sempre la soluzione di solfuro ferroso colloidale, preparata in presenza di gelatina, a gr.-mol. 0,05 per litro; faceva l'iniezione nella vena giugulare destra, e solo quando si trattava di pochi centimetri cubi la faceva nella vena auricolare sinistra.

Durante l'iniezione, anche se a dosi elevate e fatte rapidamente, i conigli non presentano assolutamente nulla, come se si iniettasse della soluzione di Ringer. Il respiro resta invariato, il cuore non si modifica per niente, i riflessi neppure, la sensibilità e la motilità non varia.

Subito dopo, slegati, mostrano di stare bene, e si mettono a mangiare; solo le mucose, le orecchie e la pelle sono brune o nere a seconda della dose iniettata. Da ciò si deduce che il solfuro ferroso colloidale per se stesso è inattivo ed innocuo, e la velocità con cui entra in circolo non può quindi modificare sensibilmente il risultato dell'esperienza.

Gli animali seguitano poi a star bene per un certo tempo, più o meno lungo a seconda della dose ricevuta. Così nell'Esp. 16 con gr.-mol. 0,001000 per Kgr. corporeo un'ora dopo l'iniezione il coniglio stava ancora bene, e nell'Esp. 36 con gr.-mol. 0,000111 per Kgr. nove ore dopo l'iniezione stava ancora bene.

Solo in seguito gli animali presentano dei fenomeni tossici ⁽³⁾: depressione generale, depressione dell'attività cardiaca; ad intervalli agitazione generale, grida, convulsioni, e da ultimo rallentamento del respiro, scomparsa dei riflessi e morte; ma, se non si sorvegliano attentamente, le prime manifestazioni tossiche di depressione ed abbattimento generale possono sfuggire, ed allora la morte avviene quasi improvvisa, come conseguenza d'una crisi,

⁽¹⁾ Lavoro eseguito nell'Istituto di Farmacologia della R. Università di Padova.

⁽²⁾ Presentata nella seduta del 4 novembre 1923.

⁽³⁾ Il dott. Spagnol con esperienze che sta facendo in questo Istituto ha visto che queste soluzioni di solfuro ferroso colloidale per iniezioni endovenose producono delle forti variazioni nel numero dei leucociti e nella formula leucocitaria.

che ricorda in molti punti quelle che sono descritte oggi come crisi colloid-elasiche.

Nei conigli con dosi alte, gr.-mol. 0,002000-0,001000 per Kgr. corporeo (Esp. 17, 16), rapidamente letali, entro un'ora circa, si ha anuria, o non v'è tempo di raccogliere una quantità d'urina sufficiente per un esame accurato. Con dosi un po' minori, gr.-mol. 0,000790-0,000400 per Kgr. (Esp. 6, 4, 3, 2) l'urina è nera, o bruno verdastria, a seconda della dose, e dà direttamente, nette ed intense, le reazioni del ferro e del solfidrico; contiene quindi del solfuro ferroso colloidale, che si elimina colla secrezione renale. Con dosi ancora minori, gr.-mol. 0,000300, o meno, per Kgr. non si trova più traccia di solfuro nell'urina.

Fra i sintomi dell'avvelenamento da solfuro ferroso ricorderò che qualche volta ho notato feci molli, ma diarrea propriamente mai; in un'esperienza sola ebbi emoglobinuria (Esp. 5^a, con gr.-mol. 0,000300 per Kgr.); e quando con dosi molto piccole i conigli sopravvissero, presentarono una diminuzione transitoria di peso.

Alla sezione cadaverica, oltre l'annerimento dei tessuti, ho notato spesso: piccole emorragie puntiformi e suffusioni sanguigne sparse nel connettivo sottocutaneo (Esp. 1, 3, 5, 8, 9) e negli intestini (Esp. 9); infarti polmonari (Esp. 3, 8, 9) qualche volta ho trovato coaguli rossi nel cuore, o nei grossi vasi (Esp. 6, 18, 9).

La tossicità del solfuro ferroso colloidale nei conigli è dimostrata dalla tabella I^a, in cui sono riuniti i dati principali e l'esito di tutte queste esperienze.

La dose più piccola che riuscì letale nei conigli per via endovenosa fu di gr.-mol. 0,000017 (Esp. 38), la dose più alta colla quale l'animale poté ancora sopravvivere fu di gr.-mol. 0,000036 (Esp. 24). Forse non erriamo molto, se fissiamo arbitrariamente la dose minima letale in gr.-mol. 0,000040.

Una dose minima letale costante e precisa non l'ho potuta stabilire, perchè il solfuro ferroso colloidale non è un veleno attuale, immediato e per sè stesso; ma, come vedremo in seguito, è tossico e letale per effetto di cambiamenti fisici e chimici che subisce e per alterazioni organiche che da quelli conseguono.

Il rapporto che passa fra la dose ed il tempo, dopo cui avviene la morte, è esposto graficamente nella fig. 1, in cui sull'asse delle ordinate sono segnate le dosi per Kgr. corporeo in gr.-mol. 10^5 e sull'asse delle ascisse sono segnati i tempi in ore, trascorsi fra l'iniezione del solfuro e la morte dell'animale.

Dalla figura si vede subito che questo rapporto non è sicuro e preciso, e che i valori sperimentali presentano frequenti e forti oscillazioni; la ragione di queste incertezze sperimentali è la stessa per la quale non si riesce a trovare con precisione la dose minima letale.

TABELLA I.

Tossicità del solfuro ferroso colloidale nei conigli per iniezione endovenosa.

Esperienza numero	Coniglio di Kg.	Soluzione iniettata		FeS iniettato		Osservazioni
		in cms	in minuti	in gr.-mol.	in gr.-mol. per Kg. corporeo	
17	1,100	44	11',56"	0,02200	0,002000	muore dopo 40'
16	1,150	23	4',23"	0,001150	0,001000	" " ore 1 e 5'
6	1,450	23	6',10"	0,001150	0,000790	" " ore 1 e 30'
1	1,400	19	6',57"	0,000950	0,000680	" " ore 12 circa
4	1,350	16	4',10"	0,000800	0,000600	" " ore 1 circa
3	1,300	13	6',25"	0,000650	0,000500	" " ore 5
2	1,250	10	14',12"	0,000500	0,000400	" " ore 6 circa
43	1,450	10,15	2',41"	0,000507	0,000350	" " ore 1 e 30'
26	1,750	10,5	1',67"	0,000525	0,000300	" " ore 6
5	1,300	7,8	1',6"	0,000390	0,000300	" " ore 12 circa
18	1,465	6	—	0,000300	0,000205	" " ore 6 e 30'
7	1,750	7	1'	0,000350	0,000200	" " ore 12 circa
35	1,110	3,8	0',34"	0,000190	0,000171	" " ore 12
8	1,100	3,3	—	0,000165	0,000150	" " ore 14 circa
23	2,150	5,8	0',32"	0,000290	0,000135	" " ore 12
36	1,240	2,75	0',31"	0,000137	0,000111	" " ore 36 circa
9	1,150	2,3	—	0,000115	0,000100	" " ore 16 circa
15	1,350	1,9	—	0,000095	0,000082	" " ore 18 e 30'
31	1,400	2	—	0,000100	0,000071	" " ore 16 circa
19	1,550	2	—	0,000100	0,000064	" " ore 36
14	1,150	1,5	—	0,000075	0,000050	" " ore 14
24	1,390	1	—	0,000050	0,000036	sopravvive; dopo 15 giorni tralascio l'osservazione.
37	1,130	0,7	—	0,000035	0,000031	muore dopo ore 60 circa
13	1,550	0,8	—	0,000040	0,000026	" " ore 30
39	1,300	0,5	—	0,000025	0,000019	sopravvive; dopo 9 giorni tralascio l'osservazione.
38	1,200	0,4	—	0,000020	0,000017	muore dopo ore 60 circa
40	1,350	0,25	—	0,000012	0,000009	sopravvive; dopo 9 giorni tralascio l'osservazione.

*
*
*

Man mano che procede l'iniezione endovenosa di solfuro ferroso colloidale, nerissimo, tutto l'animale, come se si trattasse d'un'esperienza di colorazione intravitale, a poco a poco diventa leggermente bruno e poi sempre più scuro, fino a nero intenso.

Ciò si vede molto bene nei conigli albini, nei quali la colorazione bruna compare sensibile dapprima nella mucosa del naso, delle labbra e degli occhi,

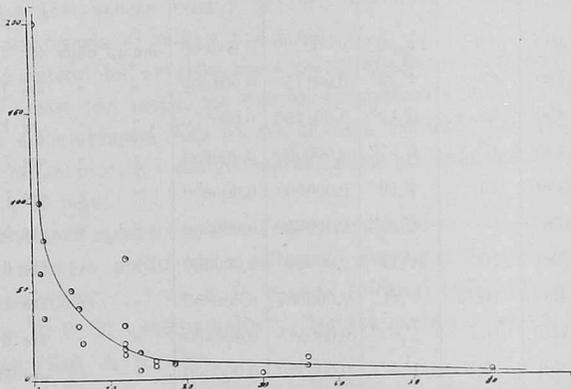


Fig. 1.

poi nel fondo dell'occhio, nel padiglione dell'orecchio ed in tutta la pelle, che traspare bruna fra il pelo bianco. Un primo cenno di sicuro imbrunimento si osservò già dopo l'iniezione di cm^3 3 di soluzione, contenenti gr.-mol. 0,000150 di FeS ; con gr.-mol. 0,000140 per Kgr. corporeo nella Esp. 18, con 0,000103 nella 6; cresce l'imbrunimento colle dosi maggiori, fino a diventare nero cupo con gr.-mol. 0,002000 per Kgr. corporeo (Esp. 17).

Questo imbrunimento, od annerimento deciso a seconda della dose, si riscontra più o meno accentuato anche in tutti gli organi interni.

Quelli che prima e più intensamente diventano neri sono il fegato, la milza, il grande omento, il midollo osseo; poi seguono i reni, le ghiandole meseraiche; da ultimo i polmoni, il connettivo sottocutaneo, il cuore, i muscoli, la sostanza grigia del cervello. Per dosi molto elevate anche il sangue appare scuro, color cioccolata, tendente al bruno verdastro, ed allora anche il liquido sieroso che si trova nel peritoneo e nel pericardio assume un colore bruno.

Particolari macchie nere più intense che nel resto del connettivo si osservano poi alle zampe, là dove erano applicati i lacci, che tenevano legato l'animale durante l'iniezione.

* * *

Il colore nero, che i tessuti e gli organi hanno acquistato coll'iniezione endovenosa di solfuro ferroso, scompare abbastanza presto. Infatti nell'Esp. 3, dopo due ore dall'iniezione, il colore nero delle mucose era sbiadito un poco e dopo 3 h. 1/2 il fondo dell'occhio era tornato di colore rosso normale. Con gr.-mol. 0,000140 e 0,000103 per Kgr. corporeo compariva subito un imbrunimento manifesto delle mucose, ma con gr.-mol. 0,000150 dopo 14 ore nell'Esp. 8 non si vedeva più nulla o quasi nulla di nero alla necroscopia.

E qui si avverta che, quantunque con dosi altissime un po' del solfuro colloidale si elimini colle urine⁽¹⁾, l'attenuazione e la scomparsa del colore nero dopo alcune ore non dipende certo dall'eliminazione, ma da un cambiamento chimico del solfuro.

Per queste osservazioni il campo sperimentale è però alquanto ristretto, perchè se iniettiamo molto solfuro per vedere bene il color nero, l'animale muore prima che la scomparsa del colore nero avvenga, e se ne iniettiamo poco, l'animale campa a lungo, ma la colorazione bruna è lieve, e la sua scomparsa difficilmente può essere apprezzata, specialmente sopra organi di per sé scuri, come il fegato, la milza ed il rene. Diventa poi difficilissimo vedere la successiva comparsa d'una lieve colorazione rugginosa. L'osservazione è resa spesso ancor più incerta dalle lesioni antomo-patologiche, che compaiono precisamente là dove si fissa il solfuro.

Ivi si formano facilmente delle dilatazioni vasali forti, degli infarti, delle emorragie, delle suffusioni sanguigne, le quali il più delle volte rendono impossibile vedere una leggera colorazione giallo rugginosa.

In qualche caso, volendo assicurarmi se il colore rosso rugginoso era dato da ferro o no, faceva arrivare sul tessuto una corrente di acido solfidrico e, quantunque la prova non sia scevra di incertezze, pur tuttavia in qualche caso diede un responso positivo sicuro. Anche il solfuro ferroso nero, che così si forma direttamente sui tessuti in cui preesisteva dell'ossido ferrico, e su cui si fa arrivare del solfidrico, a poco a poco esso pure si ossida e l'annerimento scompare, lasciando ancora una macchia rugginosa.

Per tutto questo non ci meraviglieremo se, pur avendo fatto un gran numero di esperienze, ho potuto raccogliere solo quattro osservazioni, che mi parvero sicure.

Nell'esperienza 1^a con gr.-mol. 0,00068 per Kgr. corporeo, essendo il coniglio morto 12 ore dopo l'iniezione, alla necroscopia si trovò che il grande omento solo in qualche punto era ancora nero, mentre nel resto era rosso rugginoso.

(1) Vedi Esp. 6, 4, 3, 2 sopra citate.

Nell'esperienza 8^a con gr.-mol. 0,000150 per Kgr. corporeo, essendo morto dopo 14 ore, alla necropsia si trovò che il grande omento era intensamente rosso, e solo in qualche punto bruno; col solfidrico diventò tutto nero.

Nell'esperienza 3^a con gr.-mol. 0,000500 per Kgr. corporeo, essendo morto il coniglio dopo 3 ore, alla necropsia si vide che il polmone in qualche punto aveva un colore rugginoso.

Morto il coniglio dell'esperienza 4^a, presi alcuni pezzetti di fegato, omento, milze e reni e li lasciai esposti all'aria in camera umida, sotto una campana di vetro, alla temperatura ambiente. Dopo 24 ore il colore nero o bruno di essi era scomparso del tutto, o molto attenuato. Questi cambiamenti di colore si vedono bene, iniettando del solfuro nella camera anteriore dell'occhio, e qualche poco anche iniettandolo sotto la pelle.

Possiamo quindi concludere che, come in vitro e nei tessuti staccati dal corpo dopo la sezione calaverica, anche nell'animale vivo il solfuro si ossida, passa ad ossido idrato ferrico e come tale resta là, dove prima s'era fissato il solfuro nero; resta tenacemente fissato col suo colore rugginoso, caratteristico, facilmente mascherato dal colore proprio dei tessuti.

Biologia. — *Ricerche sulle vitamine: I. Le vitamine antineuritiche* (1). Nota del Socio GAETANO GAGLIO (2).

Noi conosciamo questi nuovi principi alimentari soprattutto per la loro azione terapeutica, poichè la loro mancanza negli alimenti dà luogo, senza dubbio, a deficienza di sviluppo del corpo, ad affezioni scorbutiche, alla polineurite beriberica e ad altre manifestazioni morbose, le quali tutte possono essere prevenute e curate con la somministrazione di alimenti che contengano le vitamine. La loro composizione chimica si sottrae finora alle nostre ricerche; sono sostanze che si dimostrano attive in quantità piccolissima e che sono molto labili, come appare dalla loro debole resistenza di fronte al calore.

Sotto il nome di vitamine certamente vanno confuse sostanze diverse; di esse le meglio conosciute sono quelle che Funk ed altri ricercatori sono riusciti per mezzo di solventi e di precipitazioni ad estrarre dalla crusca di riso e dal lievito di birra. La sostanza organica azotata si è potuta ottenere cristallizzata e se ne è fatta l'analisi elementare. La specificità è dimostrata dalla pronta azione curativa che, nella dose di pochi milligrammi, spiega sui colombi ammalati di polineurite per l'alimentazione esclusiva di riso brillato.

Io ho insistito nel concetto che sostanze diversissime sono capaci di spiegare questa azione vitaminica antineuritica. L'urina dell'uomo e degli

(1) Lavoro eseguito nell'Istituto di Farmacologia della R. Università di Roma.

(2) Presentata nella seduta del 2 dicembre 1923.