



DR. GIUSEPPINA PASTORI

Assistente del Laboratorio di biologia generale

SULLA EMATOPORFIRIA SPERIMENTALE DA BENZOLDERIVATI



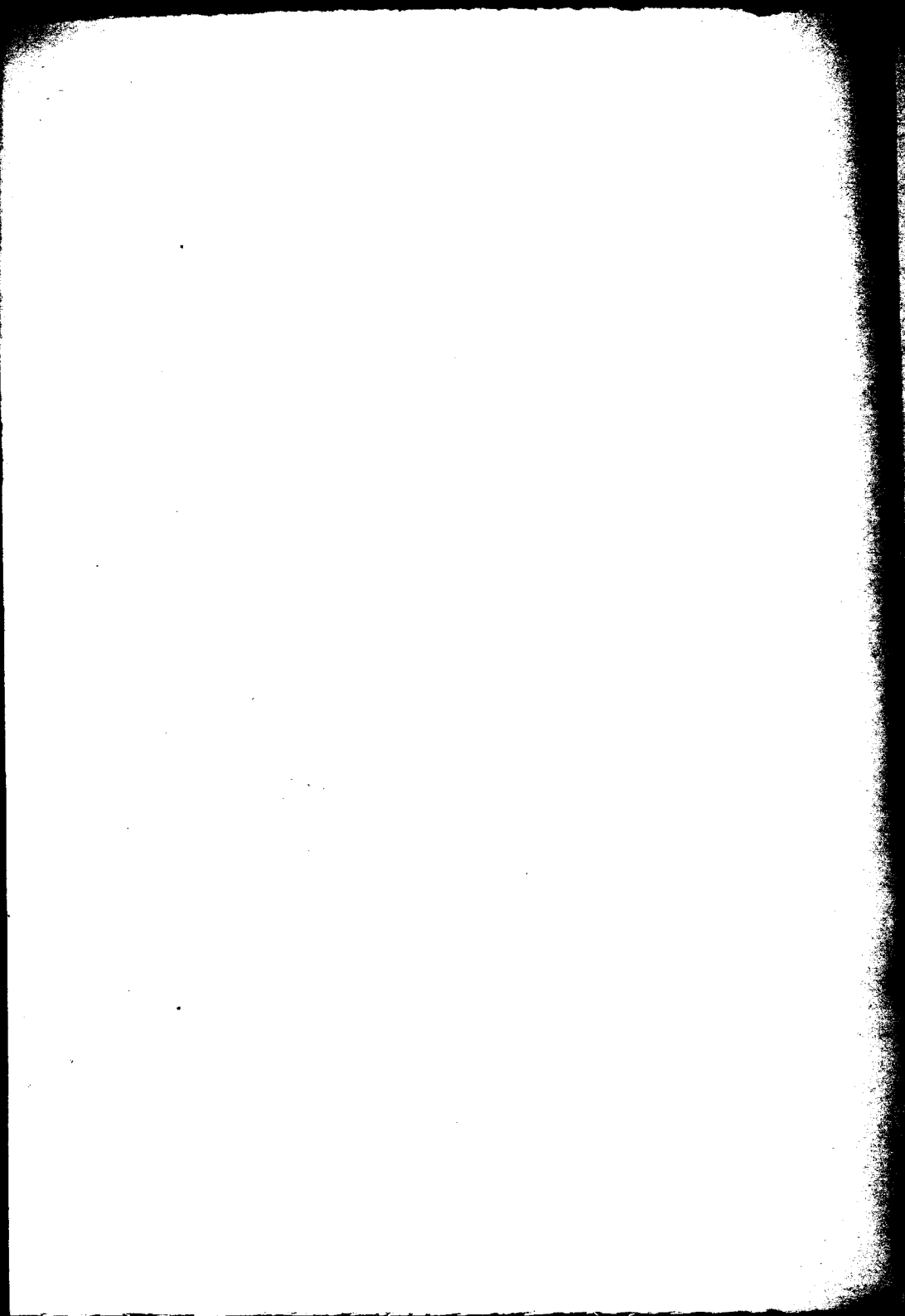
MILANO

SOCIETÀ EDITRICE «VITA E PENSIERO»

SULLA EMATOPORFIRIA SPERIMENTALE

DA BENZOLDERIVATI





PUBBLICAZIONI DELLA UNIVERSITÀ CATTOLICA DEL SACRO CUORE

SERIE SESTA: SCIENZE BIOLOGICHE

VOLUME I

DR. GIUSEPPINA PASTORI

Assistente del Laboratorio di biologia generale

SULLA EMATOPORFIRIA SPERIMENTALE DA BENZOLDERIVATI



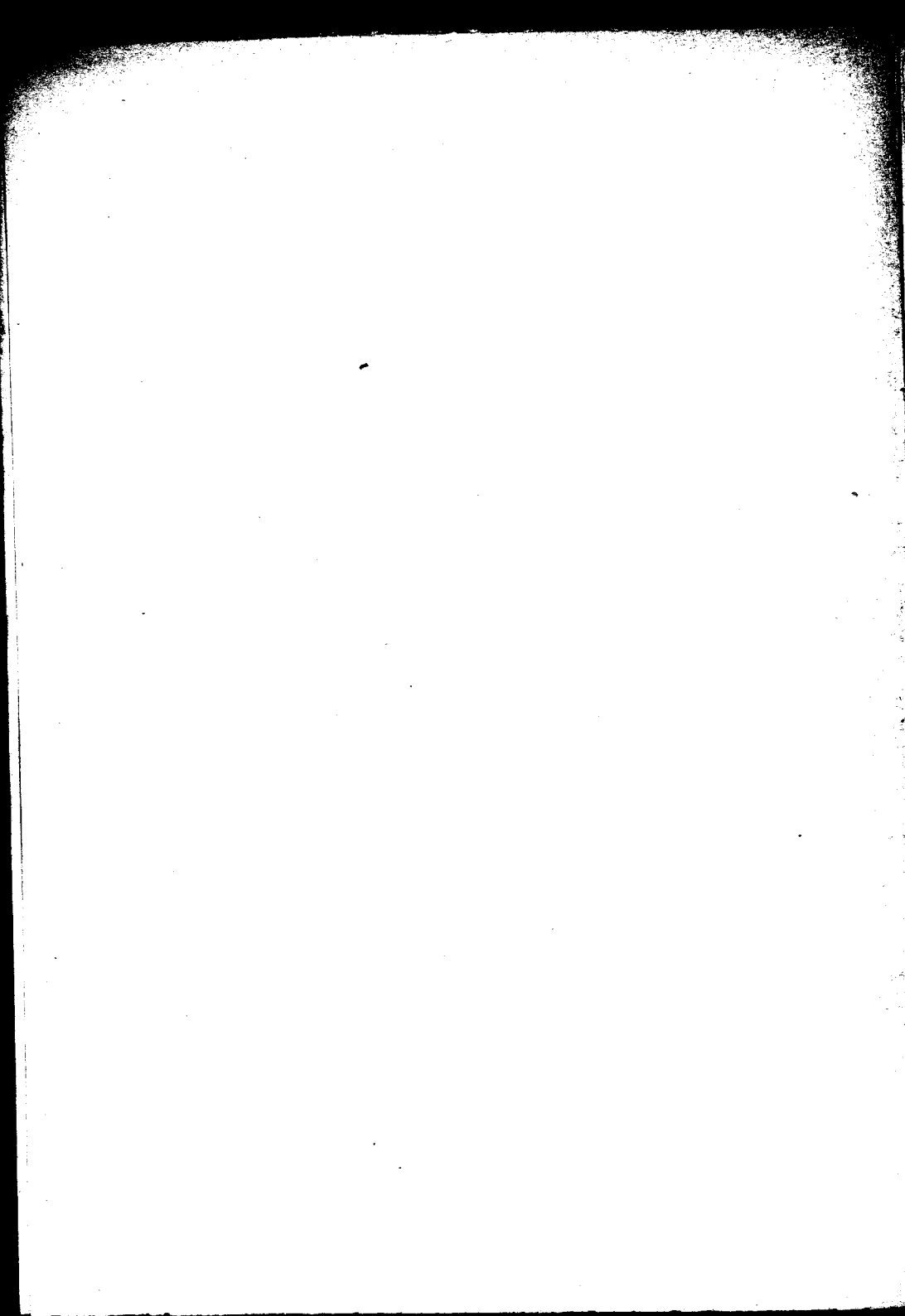
MILANO

SOCIETÀ EDITRICE «VITA E PENSIERO»

PROPRIETÀ RISERVATA

Milano - Scuola Tipografica « Figli della Provvidenza »

Gli esperimenti riferiti furono cominciati nell'Istituto di Medicina legale della R. Università di Pavia, secondo le direttive del Prof. Magnanimi, e furono continuati a Milano, nel Laboratorio di Biologia generale dell'Università Cattolica. Il Prof. Magnanimi volle benevolmente seguire anche la seconda parte degli esperimenti col suo interessamento e con i suoi consigli.



Nell'urina umana in condizioni fisiologiche si possono trovare tracce di ematoporfirina (1).

Ma una vera ematoporfirinuria, cioè la eliminazione di tale sostanza in quantità superiore alle minime tracce normali, considerata da tutti gli Autori un fatto patologico, fu dimostrata nel decorso di numerose malattie: tifo, morbillo, polmonite, reumatismo articolare acuto, meningite, pleurite, pericardite, vizi di cuore, tubercolosi, anemia grave, anemia perniciosa, cirrosi epatica, gotta, diabete, morbo di Addison, morbo di Hodgkin, emoglobinuria parossistica, ulcera gastrica, corea, ecc. (2).

Guenther chiama (3) porfirismo una particolare alterazione costituzionale propria di soggetti neuropatici o psicopatici, con saltuario o continuo aumento dell'eliminazione di ematoporfirina con le urine. Inoltre descrive quattro forme morbose — ematoporfiria — nelle quali la ematoporfirinuria assume al grado di sintoma principale; e distingue: un'ematoporfiria acuta (4); un'ematoporfiria acuta

(1) GUENTHER, *Die Bedeutung der Haematoporphyrine in Physiologie und Pathologie*, in *Erg. d. allg. Path. und path. Anat. des Menschen u. der Tier* XX. Jahrg., 1922, p. 642.

(2) BONANNI, *Ematoporfirinuria negli avvelenamenti da sulfonal*, in *Bull. Acc. Med.*, Roma, 1908, p. 559.

(3) GUENTHER, *op. cit.*, pag. 695.

(4) Colica porfirinurica di SNAPPER. Vedi: questo A., *Porphyrinurie mit und ohne Koliken*, in *Deut. med. Wochenschrift*, 1922, n. 19, p. 619.

tossica; un'ematoporfiria cronica; un'ematoporfiria congenita.

Nel suo lavoro riassuntivo del 1922 raccoglie sotto il titolo di «ematoporfiria acuta tossica» 66 casi da sulfonal (1), 10 da trional (2), uno da veronal (3) e uno da trional e veronal insieme (4).

Fra le ematoporfirie tossiche, le meglio note son dunque quelle attribuite al lungo uso terapeutico di ipnotici del gruppo del sulfonal (derivati del mercaptano) e del veronal (dietilmalonilurea); ma gli esperimenti intesi a riprodurre l'ematoporfirinuria mediante intossicazioni di animali con tali sostanze diedero finora risultati contraddittori; l'ematoporfirinuria cioè fu ottenuta da Stokvis, Neubauer, Snapper, Grynfeldt-Lafont; ma in analoghe condizioni non la ottennero Vanderlinden, Kast e Weiss (5); Bonanni con accurate ricerche stabilì che «*si può in numerosi casi produrre intossicazioni sperimentali da sulfonal senza ematoporfirinuria*» (6).

Se non che Perutz, avvelenati dei conigli col sulfonal, li espose alla luce e ottenne quelle manifestazioni vescicolose e bollose proprie dell'*hydroa aestivalis* che i clinici avevano attribuito alla presenza in circolo dell'ematoporfirina; il che conferma l'apparire in questi animali di ematoporfirina, almeno nel sangue (7).

Le ricerche sperimentali si orientarono allora nel

(1) GUENTHER, *op. cit.*, p. 719.

(2) GUENTHER, *op. cit.*, p. 728.

(3) GUENTHER, *op. cit.*, p. 738.

(4) GUENTHER, *op. cit.*, p. 739.

(5) GUENTHER, *op. cit.*, p. 724.

(6) BONANNI, *op. cit.*, p. 574.

(7) PERUTZ, *Zur Aetiologie der Hydroa aestivalis*, in *Wiener kl. Woch.*, 1910, n. 4, p. 123.

senso di dimostrare nel sangue l'ematoporfirina o una sostanza madre di questa (1): intanto, stando ai lavori più recenti, come quello di Binda che si propose proprio di stabilire « *se nell'animale avvelenato cronicamente da sulfonal esistesse ematoporfirinuria* » si dovrebbe concludere negativamente, almeno per il coniglio (2).

Altre ematoporfirinurie tossiche assumono una particolare importanza medico-legale in quanto si son verificate in avvelenamenti professionali e in particolare oltre i molti casi di ematoporfirinuria studiati nel saturnismo, furono segnalati da Mohr nel 1902 tre casi di ematoporfirinuria in avvelenamenti professionali da clorobenzolo e uno da dinitrobenzolo (3): di sostanze cioè capaci, come in generale i cloro e i nitroderivati del benzolo, di produrre un quadro tossico ben definito, e più volte ottenuto sperimentalmente da diversi Autori, quadro tossico in cui figura come fatto costante (tanto che il Brat lo raccomanda per la diagnosi precoce) la comparsa nel sangue di metaemoglobina (4).

Se dunque questi tossici posseggono come azione caratteristica quella di fissare con maggiore stabilità l'ossigeno alla molecola emoglobinica, così da renderla incapace di cederlo ai tessuti, appare singolare che nell'organismo, proprio sotto l'azione dei tossici medesimi, si formi della ematoporfirina, ossia del pigmento ematico privo di ferro, mentre è provato

(1) BINDA, *Sull'ematoporfiria tossica sperimentale*, in *Archivio di farmacologia speriment.*, 1921, p. 8.

(2) BINDA, *op. cit.*, p. 8.

(3) MOHR, *Ueber Blutveraenderung bei Vergiftungen mit Benzolkoerpern*, in *Deut. med. Woch.*, 1902, n. 5, p. 73, 74.

(4) BRAT, *Ueber gewerbliche (Methaemoglobin-) Vergiftungen und deren Behandlung mit Sauerstoffinkulationen*, in *Deut. med. Woch.*, 1901, n. 19, p. 206.

che la stabilità del ferro nella molecola emoglobinica dipende a sua volta dalla presenza di ossigeno (1); anzi, secondo Magnanimiti, l'ematoporfirina dal sangue, in vitro, per mezzo dell'acido cloridrico, si ottiene solo se si tratta del sangue nero; se il sangue è invece rosso rutilo non si ottiene (2).

Dei due fatti in apparenza contraddittori: meta-emolgoninemia ed ematoporfirinuria, il primo fu osservato anche negli avvelenamenti sperimentali da nitrobenzolo e dinitrobenzolo; anzi, il Brat (3) asserisce che nelle più antiche ricerche ove è detto che il sangue degli animali conteneva ematina (Filehne, Lewin) doveva trattarsi di metemoglobinina (4-5), il secondo non mi risulta sia stato mai riprodotto sperimentalmente.

Ciò fa pensare che negli avvelenamenti industriali da benzolderivati qualche altro fattore concorra a determinare l'ematoporfirinuria.

I resoconti delle Ispezioni Industriali Inglesi rilevano esplicitamente il rapporto fra la frequenza degli avvelenamenti nelle fabbriche di nitroderivati e la cattiva ventilazione (6).

Confrontando questo fatto con la legge biochimica che stabilisce *essere la stabilità del ferro nella molecola emoglobinica legata alla presenza dell'ossigeno*, è lecito supporre che negli avvelenamenti pro-

(1) LAIDLAW, *Some observations on blood pigments*, in *Journ. of Physiology*, London, 1904, vol. XXXI, 465.

(2) MAGNANIMITI, *Sulla formazione dell'ematoporfirina*, in *Quaderni di Medicina legale*, 1917, n. 2, p. 43.

(3) BRAT, *op. cit.*, p. 296, 297.

(4) FILEHNE, *Ueber Giftwirkung des Nitrobenzols*, in *Arch. f. experim. Path. u. Pharmacologie*, 1878, vol. IX, p. 365.

(5) LEWIN, *Ueber eine Elementarwirkung des Nitrobenzols auf Blut*, in *Arch. f. path. Anat.*, 1879, p. 447-448.

(6) RAMBOUSEK, *Gewerbliche Vergiftungen*, Leipzig, 1911, p. 138.

fessionali si sia prodotta dell'ematoporfirina più facilmente in quanto il sangue era asfittico.

Dunque, sperimentando sugli animali, non sarà indifferente introdurre la sostanza tossica per via orale o percutanea o ipodermica: l'avvelenamento per inalazione, in ambiente confinato così da ottenere una asfissia non grave ma di una certa durata mi sembra quello che più si avvicini all'avvelenamento industriale.

Nei miei esperimenti usai: il nitrobenzolo, il clorobenzolo, il cloronitrobenzolo (para).

Mi servii di conigli dei quali esaminavo sistematicamente le urine prima, durante e dopo l'avvelenamento; curando che l'alimentazione fosse mantenuta costante (1). Per i primi due animali utilizzai una gabbia di lamiera cilindrica del diametro di cm. 40 e dell'altezza di cm. 30, munita di coperchio a fori, per uno dei quali introducevo fino al fondo un tubo portante vapore acqueo carico di nitro o di clorobenzolo; uno scarico praticato nel fondo della gabbia raccoglieva l'acqua di condensazione; sopra la gabbia stendevo una pesante coperta di tela. Per gli altri due animali usai una gabbia pure di lamiera delle stesse dimensioni; ma costruita in modo da potersi completamente chiudere: la volatilizzazione del nitro o del clorobenzolo era ancora fatta utilizzando la proprietà di queste sostanze di volatilizzare facilmente col vapore acqueo: sul fondo della gabbia ponevo una capsula con 100 cc. di acqua bollente e

(1) L'esame delle urine prima dell'esperimento è richiesto da ciò che nelle urine del coniglio potrebbero comparire, in condizioni fisiologiche, tracce di ematoporfirina (BONANNI, *op. cit.*, p. 558). Negli animali da me usati non si verificò mai questo fatto. Il periodo di osservazione prima dell'avvelenamento durò da un minimo di 8 giorni al massimo di un mese.

3 cc. di nitro o clorobenzolo; tre cm. al disopra era una robusta rete metallica sulla quale poggiava l'animale.

Le quantità usate per ogni inalazione furono le seguenti:

nitrobenzolo: 3 cmc.

cloronitrobenzolo: 2 cmc.

clorobenzolo: 3 cmc.

Queste dosi sono molto inferiori a quelle di Zieger (1); però non tutta la quantità di tossico viene assorbita dall'animale: il potere assorbente della pelliccia, p. e., è una difesa che manca all'uomo, ma che nei conigli dev'essere considerevole.

L'esperimento durava in media 30 minuti.

Siccome le urine, anche fortemente ematoporfiruriche, contengono sempre altri pigmenti che mascherano in parte lo spettro caratteristico dell'ematoporfirina, così la ricerca spettroscopica si fa sempre sulla sostanza isolata.

Dei metodi proposti a tale scopo, quelli di Salkowski (2) e di Hammarsten (3) sono lunghi e complicati, quello di Garrod invece è entrato nella pratica.

Garrod precipita l'urina con $\frac{1}{5}$ del suo volume di soluzione di idrato sodico 10%; il precipitato raccolto su filtro vien lavato e poi trattato con alcool cloridrico, che ne estrae la ematoporfirina (4).

Io mi attenni a questo metodo, già entrato nella pratica clinica, appunto pensando che negli individui

(1) ZIEGER, *Studien ueber die Wirkung von Nitrobenzol, Dinitrobenzol, Nitrotoluol, Dinitrotoluol von Lunge und Haut aus*. Inaug. Dissert. Wuerzburg, 1903, p. 34, 40, 45, 48.

(2) SALKOWSKI, *Practicum der phys. u. path. Chemie*, Berlin, 1900, p. 185.

(3) vedi BONANNI, *op. cit.*, p. 568.

(4) vedi ALESSANDRI, *Urologia chimica e microscopica*, Milano, 1917, p. 294-295.

esposti ad avvelenamenti industriali da benzolderivati la ricerca dell'ematoporfirina nelle urine, vicino a quella della metemoglobina nel sangue potesse costituire un elemento di diagnosi: i metodi di Salkowski e di Hammarsten potranno essere più delicati; ma appunto per questo metteranno in evidenza anche le tracce di ematoporfirina, che non hanno valore diagnostico.

Per il metodo di Garrod usasi una quantità di urina di 200 cmc.; trattavo il precipitato ottenuto per aggiunta di soda caustica con 10 cc. di alcool cloridrico e osservavo allo spettroscopio a mano sotto lo spessore di una comune provetta; per aggiunta poi di 2 cc. di alcool amilico, agitando, ottenevo l'estrazione completa del pigmento roseo flameo che mostrava lo spettro dell'ematoporfirina acida, con le due caratteristiche bande, l'una più debole alla sinistra della D di Fraunhofer, l'altra più intensa, tra la D e la E.

Usai pure, a scopo di controllo, il metodo di Riva e Zoja, estraendo l'urina con alcool amilico e precipitandola con cloruro di zinco (1).

Coniglio A ♂ grigio: peso gr. 2280: nutrito con pane ed erbaggi verdi. Inalazione di nitrobenzolo.:

- | | |
|---------------|--------------------|
| 3 maggio 1921 | prima inalazione |
| 4 maggio | seconda inalazione |
| 6 maggio | terza inalazione |
| 7 maggio | quarta inalazione |
| 10 maggio | quinta inalazione. |

I sintomi presentati da questo animale furono piuttosto gravi, ma passeggeri; si andarono aggravando dopo le ultime inalazioni. Appena tolto dalla gabbia mostrava grande astenia, con incapacità a reggersi sugli arti nella posizione abituale; dispnea imponente, cianosi delle mucose; i vasi dell'orecchio apparivano assai dilatati e scuri, le pupille

(1) ALESSANDRI, *op. cit.*, p. 295.



erano sempre midriatiche e talvolta rigide alla luce. Dopo un quarto d'ora si reggeva bene sugli arti ed eseguiva spontaneamente movimenti di maneggio. La dispnea si andava attenuando, sino a scomparire nello spazio di un'ora.

Attraverso il padiglione dell'orecchio, rasato, non fu mai visibile altro spettro che quello dell'ossiemoglobina. Il sangue, preso direttamente dalla vena marginale durante la dispnea intensa, e trattato con acido cloridrico concentrato, dava solo lo spettro dell'ematina.

Le urine prima dell'esperimento erano giallo-terrose, pallide, torbide, alcaline; contenevano urobilina, non ematoporfirina.

Durante l'avvelenamento, sino dal giorno 4, divennero bruno-seure con fluorescenza verdastra, e mantennero tale colore sino al 12 maggio. La reazione rimase alcalina. *Quelle del giorno 5, del giorno 8 e del giorno 9 contenevano ematoporfirina dimostrabile spettroscopicamente.*

Coniglio B $\frac{0}{+}$ grigio: peso gr. 2240: nutrito con erbaggi verdi e pane.
Inalazioni di cloronitrobenzolo:

- 27 aprile 1921 prima inalazione
- 28 aprile (ore 9) seconda inalazione
- 28 aprile (ore 16) terza inalazione
- 30 aprile quarta inalazione

Anche questo animale mostrava gli stessi sintomi: astenia, cianosi, dispnea, midriasi, esoftalmo. La dispnea persistette fino a un massimo di 5 ore, dopo la terza inalazione. Attraverso i vasi dell'orecchio, violacei scuri e dilatati, si scorgeva solo lo spettro dell'ossiemoglobina; il sangue prelevato direttamente dai vasi durante la dispnea intensa, per aggiunta di acido cloridrico, mostrava lo spettro dell'ematina.

Le urine prima dell'avvelenamento erano bruno-rossastre, piuttosto seure, torbide, alcaline. Non contenevano, salvo l'urobilina, alcuna sostanza spettroscopicamente attiva. Dopo la seconda inalazione il colore assunse una spiccata tendenza al verdastrò; dopo la terza divennero scurissimi con forte fluorescenza verde (29 aprile). Il 3 maggio erano divenute di nuovo chiare, color giallo-terreo con lieve tendenza al giallo carnicino. *L'ematoporfirina era dimostrabile: il 30 aprile, il 1º maggio, il 2 maggio; e ancora in tracce il 3 maggio.*

Coniglio C $\frac{+}{0}$ nero: peso gr. 1900, nutrito con erbaggi verdi e pane.
Inalazioni di nitrobenzolo:

- 21 maggio 1923 prima inalazione
- 22 maggio seconda inalazione
- 24 maggio terza inalazione
- 26 maggio quarta inalazione
- 28 maggio quinta inalazione
- 29 maggio sesta inalazione

Sintomatologia solita: cianosi, modica nei primi esperimenti, più accentuata nei successivi; dispnea; movimenti di maneggio.

Le urine prima dell'esperimento erano rossastre, torbide, alcaline; la quantità giornaliera oscillante fra 200 e 300 cc., il peso specifico da 1010 a 1021; mai vi si poté dimostrare ematoporfirina.

Dopo la terza inalazione assunsero un color rosso mattone scuro, e dopo la sesta mostrarono una netta fluorescenza verde. La quantità nelle 24 ore e il peso specifico non subirono variazioni degne di nota.

L'ematoporfirina vi si poté dimostrare: il 25 maggio, il 30 maggio e il 1° giugno.

Coniglio D $\overline{5}$ grigio: peso gr. 1930, nutrito con erbuggi verdi e pane.

Inalazioni di clorobenzolo:

26 maggio 1923	prima inalazione
28 maggio	seconda inalazione
29 maggio	terza inalazione
30 maggio	quarta inalazione
2 giugno	quinta inalazione
4 giugno	sesta inalazione
5 giugno	settima inalazione
6 giugno	ottava inalazione

L'animale nostrò gli stessi sintomi dei precedenti; ma più gravi, in quanto la dispnea durava a lungo e, negli ultimi giorni di esperimento non scompariva del tutto fra una inalazione e l'altra; invece l'ematoporfirina nelle urine comparve tardi (tanto che furono necessarie otto inalazioni); e si mantenne fino a 14 giorni dopo l'inalazione.

Le urine prima dell'esperimento erano rosso-mattone, torbide, alcaline, in quantità oscillante fra 200 e 300 cc. nelle 24 ore; il peso specifico si manteneva fra 1010 e 1020; non comparve mai ematoporfirina, nè altra sostanza spettroscopicamente attiva all'infuori della urobilina.

Durante l'esperimento divennero rossastre scure, il 27 giugno erano diroiche, verdi per trasparenza, rosse per incidenza; la quantità, l'aspetto torbido, il peso specifico, la reazione alcalina non variarono; *ci si poté dimostrare l'ematoporfirina il 6 giugno, il 18, il 19 e il 20 giugno.*

Il 13 giugno, eseguendo la prova di Garrod per la ricerca dell'ematoporfirina, vidi che l'alcool acidulo che serviva a lavare il precipitato ottenuto con idrato di sodio, invece del color rosa carnicino che di solito accompagna la presenza di ematoporfirina, assumeva un bellissimo color verde erba: questo liquido allo spettroscopio mostrava una banda netta e intensa, nel rosso, presso a poco nella regione stessa dove suol apparire la banda della ematina acida; lo stesso fatto si ripeté il giorno 14. Queste urine non contenevano ematoporfirina, la quale, come ho detto, ricomparve il giorno 18, il 19 e il 20.

Quanto alla sostanza di cui sopra, trattandosi di animale erbivoro, è facile pensare che si tratti di clorofilla; ad ogni modo è questo un reperimento isolato, che ha bisogno di conferma, e sarà quindi ragione di altre osservazioni. Poi non vi si poté dimostrare altra sostanza spettroscopicamente attiva fino al giorno 28, giorno in cui sacrificai l'animale, uccidendolo col cloroformio.

All'autopsia l'animale appariva ben nutrito; la muscolatura e i visceri mostravano la caratteristica colorazione brunastra; il sangue era pure bruno, coagulava prontamente; raccolto direttamente dal cuore mostrava solo lo spettro dell'ossiemoglobina; dal sangue lasciato coagulare spontaneamente si separava un siero limpido, paglierino, spettroscopicamente inattivo; non vi era quindi emolisi. L'urina raccolta in vescica era in troppo scarsa quantità per potervi cercare l'ematoporfirina (5 cc. circa): essa mostrava solo lo spettro della urobilina.

Il fegato aveva, come gli altri visceri, una tinta brunastra; ma al taglio lasciava lucida la lama e un pezzo di carta, appoggiatovi sopra, prendeva una macchia oleosa; ne fissai alcuni pezzetti in formalina 10%, altri in una miscela a parti uguali di formalina 10% e soluzione satura in acqua di acido pierico; pestai tutto il resto dell'organo nel mortaio con aggiunta di alcool cloridrico; il filtrato conteneva ematoporfirina estraibile con alcool amilico e dimostrabile allo spettroscopio allo spessore di 1 cm.

Anche l'estratto amilico, così eseguito, dai reni conteneva ematoporfirina; mentre non la potei dimostrare nell'estratto del cuore, nè della milza, nè dei polmoni.

Esaminai col metodo di Daddi i pezzi di fegato che avevo fissati e congelati: essi mostravano una quantità abbondante di goccioline adipose: sia a gruppi di minutissime goccioline nelle cellule del parenchima, sia grosse goccioline isolate extracellulari.

Contemporaneamente avvelenai col nitrobenzolo per via sottocutanea due conigli, iniettando la sostanza a dosi refratte per aver tempo di raccogliere le urine; e mi riesci agevolmente di ottenere la metemoglobinemia descritta dagli AA.; ma non rinvenni ematoporfirina nelle urine. Avevo scelto due conigli albi, attraverso il padiglione auricolare dei quali si scorgeva agevolmente lo spettro dell'ossiemoglobina; durante l'avvelenamento si vide pure quello dell'emoglobina ridotta; non quello della metemoglobina, che comparve però nel sangue raccolto subito dopo la morte degli animali. Al 1° coniglio, del peso di gr. 1300, iniettai 2 cmc. di nitrobenzolo in tre riprese, alla distanza di 5 ore tra la prima e la seconda iniezione, di 16 ore tra la seconda e la terza; l'animale, che già dopo la prima iniezione aveva mostrato sonnolenza, dispnea, cianosi, morì 4 ore dopo la terza iniezione.

Al 2° animale, del peso di g. 1010, praticai 2 iniezioni di $\frac{1}{2}$ cc. ciascuna di nitrobenzolo sottocute, a 24 ore di distanza l'una dall'altra; l'animale mostrò gli stessi sintomi del primo; ma morì nella notte successiva alla seconda iniezione, che era stata praticata alle 10 del mattino.

Le urine di questi animali, esaminate accuratamente prima e durante l'avvelenamento, non mostrarono alcuna modificazione notevole; non contenevano ematoporfirina.

All'autopsia dei due conigli constatati il colore del sangue bruno cioccolato del reperto classico; anche la muscolatura e gli organi parenchima-

tosì avevano assunto una velatura bruna che ne mascherava il colore singolo; odoravano di mandorle amare; il sangue bruno, fluido, raccolto dai ventricoli, mostrava lo spettro della metemoglobina; trattato con acido cloridrico concentrato dava lo spettro dell'ematina; agitato lungamente all'aria non mutava colore; per aggiunta di cianuro di potassio invece il color bruno virava al rosso mattone.

Da questi esperimenti risulta dunque che nei conigli, assoggettati ad inalazioni ripetute di nitrobenzolo, clorobenzolo, cloronitrobenzolo, e resi asfittici, si può ottenere sperimentalmente la comparsa nelle urine della stessa sostanza che il Mohr riscontrò nei suoi avvelenati: cioè dell'ematoporfirina.

Non risulta invece che si possa ottenere la ematoporfirinuria nei conigli avvelenati da nitrobenzolo per via sotto-cutanea.

Quanto alla metemoglobina, essa venne da me riscontrata nel sangue degli animali avvelenati per via sottocutanea, ma solo dopo aver raggiunto la dose letale.

Prima di trarre da questi fatti alcune considerazioni, mi pare opportuno riassumere brevemente le notizie che ho potuto raccogliere circa l'importanza dei nitro e clorobenzoli quali veleni professionali, nonchè la letteratura riguardante gli esperimenti che, con i suddetti tossici, furono eseguiti su animali da laboratorio.

A prescindere dalle intossicazioni verificatesi nelle circostanze più varie, ma fuori dal campo professionale (1), il nitrobenzolo ha dato luogo ad avvelena-

(1) Una donna che ne inghiottì tre grammi destinati ad uso di pasticceria sarebbe certamente morta se non fosse stata curata in tempo con la lavatura gastrica; un'altra che ne inghiottì un cucchiaino a scopo abortivo mostrò cianosi, ipotermia, metemoglobinemia; nelle urine forte quantità di urobilina ed urobilinogeno (ROTH, *Zur Kenntnis der Nitrobenzolvergiftung*, in *Centralbl.*

menti industriali numerosissimi: Roehl nel 1889 ne raccoglieva 60 casi della fabbrica di roburite di Witten a Ruhr (1); dove gli ambienti erano spesso saturi di esalazioni di nitrobenzolo; Rambouseck nel suo libro sugli avvelenamenti industriali (1911) li dice molto frequenti nelle fabbriche di colori di anilina, oltre che in quelle di roburite (2); Kobert nel Compendio di tossicologia del 1915 calcola 150 i casi occorsi fino allora (3); i due casi di Massini sono del 1911 (4); del 1902 è il caso di Mohr, studiato insieme con 4 casi di avvelenamento (in circostanze analoghe) da clorobenzolo; e di cui la sintomatologia l'A. accuratamente descrive (5): un operaio di 33 anni, esposto ai vapori di nitrobenzolo, aveva già assunto il colorito caratteristico della cute, verdogiallognolo, e aveva notato un color bruno verdastro delle urine; in una giornata di vacanza, dopo aver molto bevuto, cadde privo di sensi. Polso debole, grave sonnolenza. Nell'urina, color rosso vinoso durante la degenza, non venne ricercata l'ematoporfirina, che l'A. riscontrò negli avvelenati da clorobenzolo e dinitrobenzolo; il sangue rosso bruno, sebbene non avesse una manifesta tinta color cioccolata, conteneva metemoglobina.

La metemoglobinemia fu riscontrata pure da

f. innere Medizin, 1912, n. 17, p. 417); un giovane, che aveva ballato molte ore in scarpe di panno, trattate con una crema, ammalò e morì dopo poche ore: la crema conteneva nitrobenzolo (STONE, *Fatal poisoning due to skin absorption of liquid shoe blacking*, in *Journ. of Amer. Med. Assoc.*, 1904, p. 977).

(1) ROEHL, *Ueber acute u. chron. Intoxicat. durch Nitrokoerper der Benzolreihe*, Diss. Rostoch 1889 e *Vierteljahrsschrift f. ger. Med.*, 1890, p. 202.

(2) RAMBOUSEK, *op. cit.*, p. 136 e 139.

(3) KOBERT, *Compendio di tossicologia*, Milano, 1915 (trad. FILIPPI), p. 193.

(4) MASSINI, *Ueber Nitrobenzolvergiftung, Blutbefund und Verhalten des Hens bei derselben*, in *Deut. Arch. f. klin. Med.*, 1911, p. 73, 75.

(5) MOHR, *Ueber Blutveraenderung, ecc.*, in *Deut. med. Woch.*, 1902, n. 5, p. 74.

Massini (1); mentre Roehl aveva già notato che, nei casi più gravi, il sangue era color cioccolato (2).

Il quadro tossico del clorobenzolo e del cloronitrobenzolo è analogo a quello del nitrobenzolo, salvo la maggiore tossicità (3).

Il Brat come medico di assicurazione, ebbe campo di osservare avvelenamenti industriali da cloronitrobenzolo con metemoglobinemia (4); Mohr ne descrisse 4 casi da clorobenzolo, notando la coincidenza dei sintomi gravi con abusi alcoolici; e in tre dei suoi casi, riscontrò l'ematoporfirinuria.

Lo stesso A. riferisce su un altro caso di ematoporfirinuria in un avvelenato, nelle stesse circostanze, da dinitrobenzolo.

Sono, in tutto, quattro casi; ma che il reperto non sia accidentale lo prova il colore speciale delle urine, che l'A. chiama « rosso borgogna » e che dice di aver notato anche in tutti gli altri casi, nei quali l'ematoporfirina non venne ricercata (5).

Lo stesso colore caratteristico dell'orina notano White, Hay, Orsmann nei loro avvelenati da dinitrobenzolo (6).

E da notare che nè l'anilina, nè i derivati di essa,

(1) MASSINI, *op. cit.*, p. 73.

(2) ROEHL, *op. cit.*, p. 202.

(3) A proposito di alcuni avvelenamenti da benzolo, verificatisi in una fabbrica di impermeabili a Milano, dove il benzolo si usa come solvente della gomma, e discussi nella seduta del 12 maggio 1922 della Società Lombarda di Scienze Mediche e Biologiche (comunicaz. RONCHETTI-ZENONI) venne sollevata la questione, se i fenomeni gravi di avvelenamento fossero dovuti a tracce di nitrobenzolo contenute come impurità nel benzolo industriale. Ma PUGLIESE, che esaminò i diversi tipi di benzolo usati nell'industria della gomma, eschuse questa possibilità (Vedi *Atti della Soc. Lomb.*, vol. XI, 1922, p. 342).

(4) BRAT, *op. cit.*, p. 296-298 e 320-322.

(5) MOHR, *op. cit.*, p. 74.

(6) WHYTE, HAY, ORSMANN, *Some notes from an inquiry into the action of dinitrobenzene upon the urine of man*, *Lancet*, 1901, riassunto in *Virchow's Jahrbuch*, 1902, p. 611.

erano fabbricati in Italia prima della guerra; nessun gasometro, neppure i maggiori di Milano che producevano annualmente 37 milioni di mc. di gas ciascuno, era provvisto di impianti di lavaggio per estrarre il benzolo greggio; ma molti di tali impianti furono creati appunto durante la guerra; nel 1918 la produzione mensile complessiva del benzolo greggio dal lavaggio del gas fu di 3825 quintali, quella dell'anilina 900 quintali; del cloridrato di anilina 150 quintali; della paranitroanilina 30 quintali (1).

Nel 1921 la produzione italiana di mononitrobenzolo fu di quintali 3.700; quella di prodotti intermedi per la fabbricazione dei colori sintetici fu complessivamente di 9.200 quintali; nel 1922 la produzione del nitrobenzolo salì a 5.250 quintali e quelle dei prodotti intermedi a 17.075 quintali.

Non esistono, finora, disposizioni legislative che considerino tali avvenimenti come malattie professionali indennizzabili (2); ma se la maggioranza degli avvelenamenti conosciuti sono lenti, non mancano casi di fenomeni gravi per azione rapida del veleno a forti dosi (durante il travaso di recipienti o per rottura dei medesimi), come già osservava il Roehl (3); e questi rivestono certamente la figura di infortuni sul lavoro.

Molti avvelenamenti sperimentali furono pubblicati da nitrobenzolo e dinitrobenzolo; non mi consta che in alcuno si sia verificata l'ematoporfirinuria.

(1) *Annuario per le industrie chimiche e farmaceutiche del Min. Ind. Comm. e Lavoro*, anno I, 1918, p. 14.

(2) *Notizie assunte presso l'Ispettorato Medico del Lavoro dall'Istit. Ital. di Previd. Soc.*, Roma, lett. 30 nov. 1923.

(3) ROEHL, *loc. cit.*

Fin dal 1871 Starkow aveva classificato il nitrobenzolo tra quei corpi che, tanto nel sangue in vitro quanto negli animali da esperimento, fanno apparire, oltre le due bande dell'ossiemoglobina, un'altra banda d'assorbimento nel rosso, corrispondente alla ematina acida (1). Anche Filehne rinvenne tale banda nel sangue dei cani avvelenati col nitrobenzolo, non in quello dei conigli i quali, secondo questo autore, muoiono prima che tutto il sangue cessi di essere arterializzabile; e neppure nel sangue trattato in vitro col nitrobenzolo (2). Lewin, che riprese le ricerche usando nitrobenzolo puro, assolutamente privo di acidi, ottenne la stessa banda osservata da Starkow sia nel sangue in vitro (a 37°), sia in circolo nei cani; ritiene che l'ematina si formi anche nel sangue dei conigli; ma che essi muoiano prima che l'ematina raggiunga tale quantità da essere visibile allo spettroscopio (3).

In ricerche più recenti, Brat affermò che gli spettri attribuiti dai precedenti osservatori all'ematina erano invece dovuti alla metemoglobina, che si forma in circolo sotto l'azione dei nitro e dei cloroderivati del benzolo; questi corpi sono tanto più metemoglobinogeni quanti più gruppi NO_2 hanno nella molecola: l'A. li ordina in serie crescente di tossicità: nitrobenzolo, cloronitrobenzolo, binitroclorobenzolo, binitrobenzolo (4).

White e Hay che sperimentarono con diversi composti nitrici aromatici, affermano che il mononitrobenzolo è inerte sui gatti (5); dalle ricerche di Zieger

(1) STARKOW, *Zur Toxikologie der Koerper der Benzingrouppe*, in *Arch. f. path. Anat.*, vol. LII, 1871, p. 464.

(2) FILEHNE, *op. cit.*, p. 378.

(3) LEWIN, *op. cit.*, p. 448.

(4) BRAT, *op. cit.*, p. 296-297.

(5) WHITE and HAY, *Some recent inquiries and researches into the poisonous properties of naphthalene and their aromatic compounds*. Lancet, 1900, p. 592 (riassunto in *Virchow's Jahrbuch*, 1902).

risulterebbe invece che il nitrobenzolo, il dinitrobenzolo, il nitrotoluolo e il dinitrotoluolo inalati non sono dannosi: anche in forti concentrazioni cagionano sintomi lievi e passeggeri; ma assorbiti attraverso la pelle sono altamente tossici: compare cianosi delle mucose e metemoglobinemia (1).

Salvo Zieger, che ricorse all'inalazione e all'imbibizione della cute, tutti gli sperimentatori sopra elencati avvelenarono gli animali per via sottocutanea.

I risultati da me ottenuti avvelenando i conigli con nitrobenzolo, per via sottocutanea, si accordano con le affermazioni di Filehne (2) e di Lewin (3), che la metemoglobina nel sangue dei conigli si formi tardi, così che essi muoiono prima che la metemoglobina sia spettroscopicamente dimostrabile nel loro sangue. Non è dunque a meravigliarci, se nell'avvelenamento lieve, ottenuto per inalazione, non mi sia riuscito di dimostrare la metemoglobinemia.

Il mio proposito nel ricercare l'ematoporfirinuria era quello di trovare una conferma sperimentale all'ematoporfirinuria tossica da benzolderivati osservata clinicamente dal Mohr, ematoporfirinuria che, nella diagnosi di tali avvelenamenti, può costituire un sintoma di non dubbia importanza (4).

L'ipotesi, che negli avvelenati da nitro e clorobenzolo in ambienti industriali si formi ematoporfirina più facilmente dall'emoglobina del sangue in quanto il sangue è asfittico, come si accorda con gli esperimenti di Magnanimiti sul sangue in vitro (5),

(1) ZIEGER, *op. cit.*, p. 6 e 7.

(2) FILEHNE, *loc. cit.*

(3) LEWIN, *loc. cit.*

(4) MOHR, *loc. cit.*

(5) MAGNANIMITI, *loc. cit.*

così trova un appoggio nei miei esperimenti sugli animali.

Qualche considerazione vorrei fare ancora sull'origine dell'ematoporfirina nell'organismo.

Siccome non possiamo osservare direttamente come dall'emoglobina si formi questo suo derivato, inetto alla funzione respiratoria perchè privo di ferro, e per di più tossico, il campo è aperto alle ipotesi, le quali si basano su analogie con la trasformazione, in vitro, dell'emoglobina nei suoi derivati.

Così non è difficile pensare che nelle emorragie interne si formi l'ematoporfirina, dal momento che vediamo, fuori dall'organismo, il pigmento ematico abbandonato a sè, per azione del tempo (cioè per azione lenta di agenti fisici e chimici mal definiti) trasformarsi fino all'ematoporfirina, che ritroviamo nelle vecchie macchie di sangue (1); anche nelle echimosi e negli ematomi, lasciati a sè, si può ritrovare l'ematoporfirina.

La trasformazione dell'emoglobina in ematoporfirina può farsi anche nell'intestino: Snapper e Dalmeier informano che spesso, nei neoplasmi maligni del tubo gastroenterico, esclusa la carne dalla dieta, e quando le comuni ricerche del sangue sulle feci danno esito negativo, la presenza di ematoporfirina svela le emorragie occulte, così importanti per la diagnosi (2).

Secondo questi AA., non è il caso di preoccuparci della somiglianza dei due spettri della ematoporfirina

(1) LOCHTE e DANZIGER introdussero nell'ematologia forense la ricerca dei cristalli di ematoporfirina (GUENTHER, *op. cit.*, p. 614); la ricerca spettroscopica era già comunemente usata, specie per macchie molto vecchie e alterate.

(2) SNAPPER u. DALMEIER, *Bedeutung der Abbaues von Blutfarbstoff in Darm zu Porphyrin fuer den Nachweis des okkultes Blutes in Faeces*, in *Deut. med. Woch.*, 1921, n. 34, p. 986.

e della filloporfirina (1), perchè la clorofilla introdotta con gli alimenti non può trasformarsi nell'intestino umano in filloporfirina; del resto i due spettri sono sempre differenziabili (2).

Ma se, per l'ematoporfirina eliminata dall'intestino, la questione è relativamente semplice, essa si fa complessa quando si tratta di spiegare l'eliminazione dell'ematoporfirina dal rene.

L'ipotesi, che l'ematoporfirina si formi in circolo per emolisi da acidi, basata anch'essa su un'analogia con le trasformazioni in vitro dell'emoglobina, aspetta ancora una conferma sperimentale.

Invece Neubauer dimostrò che l'alcalinizzazione dell'urina mediante forti dosi di bicarbonato sodico non modifica l'ematoporfirinuria (3).

L'ematoporfirina che si elimina dal rene potrebbe essersi formata in tutto o in parte, in un organo dove avvengono così importanti elaborazioni e trasformazioni del pigmento ematico: nel fegato.

Nencki e Sieber nel 1888 affermarono che nella cellula epatica si formano contemporaneamente la bilirubina e l'ematoporfirina; la prima si elimina; la seconda serve a costruire nuova emoglobina (4).

Pi-Suñer vide l'ematoporfirina iniettata ai cani

(1) L'ematoporfirina trattata con acido iodidrico in presenza di ioduro di fosfonio dà luogo all'emopirrolo; ora questo stesso corpo si ottiene, con lo stesso processo di riduzione, anche partendo da un sale doppio della fillocianina con acetato di rame, cioè dalla stessa sostanza che serve a preparare la filloporfirina. La parentela di questo derivato della clorofilla con la ematoporfirina è inoltre provata dal fatto che essi, nelle soluzioni eterree acide o nelle soluzioni alcaline o nelle combinazioni con lo zinco, danno lo stesso spettro, salvo che le bande dell'ematoporfirina son leggermente spostate verso il rosso. (BONANNI, *op. cit.*, p. 445 e segg.).

(2) GUENTHER, *op. cit.*, p. 624.

(3) NEUBAUER, *Htpurie und Sulfonalvergiftung*, in *Arch. f. exper. Path. u. Pharm.* 1900, p. 468.

(4) NENCKI u. SIEBER, *Ueber Haematoporphyrin*, in *Arch. f. exper. Path. u. Pharmacol.*, 1888, p. 444.

passare nelle urine solo dopo aver provocata la degenerazione grassa (da fosforo) del fegato (1).

Zoja, in base a numerose osservazioni cliniche, stabili essere lesione epatica ed ematoporfirinuria fatti clinicamente coesistenti; e ne dedusse che « la lesione epatica probabilmente rappresenta la condizione prima perchè si abbia ematoporfirina nelle urine » (2).

Anche la dimostrazione che il fegato, in vitro, distrugga l'ematoporfirina, fu data sperimentalmente da Pi-Suner (3); ma Guenther obietta a proposito che, in casi di ematoporfiria congenita, le prove funzionali del fegato diedero risultati normali (4).

Che il fegato abbia una parte importante nella distruzione se non nella produzione o nella trasformazione della ematoporfirina, è tanto più logico di supporre, in quanto l'ematoporfirina è sostanza tossica. Essa appartiene a quel gruppo di sostanze che Tappeiner chiamò sensibilizzatori fotodinamici (5), per l'azione micidiale esplicata sui parameci e sui fermenti esposti alla luce; in particolare, la tossicità della ematoporfirina per animali esposti alla luce è dimostrata non solo nei topi e nei conigli da Hausmann (6) da Perutz (7), da Radaeli e Cevidalli (8),

(1) PI-SUNER, *Fonction fixatrice du foie sur les produits de dédoublement de l'hémoglobine*, in *Journ. de Physiol. et Path. gén.*, 1903, n. 5, p. 1055.

(2) ZOJA, *Su qualche pigmento di alcune urine e specialmente sulla presenza in esse di ematoporfirina ed uroeritrina*, in *Arch. ital. di Clin. med.*, 1893, p. 110.

(3) PI-SUNER, *op. cit.*, p. 1060.

(4) GUENTHER, *op. cit.*, p. 757.

(5) TAPPEINER, *Ueber sensibilisierende Wirkung fluoreszierender Stoffe auf Hefe und Hefepressat*, in *Biochem. Zeitschrift*, 1908, p. 48.

(6) HAUSMANN, *Die sensibilisierende Wirkung tierischer Farbstoffe und ihre physiol. Bedeutung*, in *Wien. klin. Woch.*, 1908, p. 1572; e lo stesso, *Ueber die giftige Wirkung der Haematoporphyrins auf Warmbluter bei Belichtung*, in *Wien. klin. Woch.*, 1909, p. 1820.

(7) PERUTZ, *op. cit.* p. 122, 123.

(8) RADAELI e CEVIDALLI, *Ricerche sperimentali sull'azione fotodinamica della ematoporfirina*, in *Giornale ital. mal. ven. e d. pelle*, 1914, p. 430-434.

ma anche nell'uomo, poichè clinicamente Anderson (1), Ehrmann (2), Linser (3), Radaeli (4), Cappelli (5) descrissero l'ematoporfirinuria come reperto costante nell'*hydroa aestivalis*, e sperimentalmente Meyer-Betz provocò l'*hydroa* su se stesso con l'iniezione endovenosa di gr. 0,20 di ematoporfirina (6).

L'ipotesi che il fegato abbia l'ufficio di distruggere o trasformare l'ematoporfirina richiama una circostanza notata dal Mohr: i suoi avvelenati erano bevitori, non solo; i fenomeni gravi di avvelenamento si verificarono sempre in coincidenza con abusi di alcool (7).

La degenerazione grassa del fegato, da me riscontrata si accorda con il rapporto già clinicamente stabilito fra insufficienza epatica ed ematoporfirinuria, rapporto di cui rimane ancora a stabilire la natura.

*
* * *

Dagli esperimenti sopra riferiti credo dunque poter dedurre le seguenti conclusioni:

Nell'avvelenamento da nitrobenzolo per via sottocutanea, nei conigli, bisogna arrivare a dosi mortali per

(1) ANDERSON, *Hydroa aestivalis* in two brothers, in *Brit. med. Journ.* 1898, p. 1.

(2) EHREMANN, *Versuche ueber Lichtwirkung bei Hydroa aestivalis*, in *Arch. f. Dermatologie*, 1905, p. 163.

(3) LINSER, *Ueber Zusammenhang zwischen Hydroa aestivalis u. Htpuria*, in *Arch. f. Dermatologie*, 1906, p. 251.

(4) RADAELI, *Contributo alla conoscenza della hydroa vacciniiforme di Bazin*, in *Giorn. ital. mal. ven. e della pelle*, 1911, p. 95 e p. 98.

(5) CAPPELLI, *Caso singolare di hydroa vacciniiforme con ematoporfirinuria ed ipertricosi*, in *Giorn. it. mal. ven. e d. pelle*, 1914, p. 481, 496.

(6) MEYER-BETZ, *Untersuchungen ueber die biolog. (photodynam.) Wirkung des Htp.*, in *Deut. Arch. f. klin. Med.*, 1913, p. 482.

(7) MOHR, *op. cit.*, p. 74.

ottenere metemoglobinemia dimostrabile; non si ottiene ematoporfirinuria;

Nell'avvelenamento da nitrobenzolo, clorobenzolo, cloronitrobenzolo, per inalazione, quando si raggiunga uno stato asfittico di una certa durata, si può determinare nei conigli la ematoporfirinuria (1).

(1) La letteratura completa sull'ematoporfirina è raccolta nel lavoro di GUENTHER, *Die Bedeutung der Haematoporphyrine in Physiologie und Pathologie*, in *Ergebnisse der allg. Path. u. Path. Anatomie*, 1922, p. 609-764.

390

— 27



PUBBLICAZIONI DELL'UNIVERSITÀ CATTOLICA DEL SACRO CUORE

Serie Prima: SCIENZE FILOSOFICHE. - Volume I.

- Fasc. 1. - FRANCESCO OLGIATI, *L'anima di S. Tommaso*. Saggio filosofico intorno alla concezione tomistica. Vol. in-8 di pag. 149, L. 8.
Fasc. 2. - MARIANO CORDOVANI, *Rivelazione e filosofia*. Vol. in-8 di pagine 178, L. 7.
Fasc. 3. - GIUSEPPE ZAMBONI - *La gnoseologia dell'atto*. Vol. in-8 di pagine 160, L. 8.
Fasc. 4. - Lavori del Laboratorio di psicologia sperimentale:
1. AGOSTINO GEMELLI, *Ricerche sperimentali sul comico*.
2. AGOSTINO GEMELLI, *Ricerche sull'attività volontaria nel lavoro manuale*.
3. GALLI e BERETTA, *Ricerche sulle associazioni preferite*.
4. GEMELLI e GALLI, *Sulle nozioni in fanciulli normali ed anormali* (in preparazione).
Fasc. 5. - AMATO MASNOVO, *Il neotomismo italiano in Italia*. Vol. in-8 di pagine 248, L. 12.

Volume II.

SAN TOMMASO D'AQUINO - Pubblicazione Commemorativa del VI Centenario della canonizzazione con scritti di: M. GRABMANN - A. GEMELLI - D. LANNA - A. BERNAREGGI - G. BUSNELLI - E. CHIOCHETTI - M. CORDOVANI - P. DE MUNYNYK - A. MASNOVO - F. OLGIATI - P. ROSSI - P. ROTTA - R. M. SCHULTES - G. SESTILI, pubblicati a cura della Facoltà di Filosofia dell'Università cattolica del sacro Cuore. Vol. in-8 di pag. 320 con una tavola fuori testo (esaurito).

Volume III.

- Fasc. 1. - MARIANO CORDOVANI, *L'attualità di S. Tommaso d'Aquino*. Vol. in-8 di pag. 128, L. 10.

Serie Seconda: SCIENZE GIURIDICHE. - Volume I.

- Fasc. 1. - *Sulla riforma del codice penale italiano*. A proposito del progetto Ferri. Parere della facoltà di Scienze sociali dell'Università cattolica del sacro Cuore (esaurito).
Fasc. 2. - EMILIO ALBERTARIO - *Animus furandi*. Contributo alla dottrina del furto nel diritto romano e bizantino. Vol. in-8, di pag. 40, L. 4.
Fasc. 3. - GIULIO BATTAGLINI, *Introduzione allo studio del diritto penale*. Vol. in-8 di pag. 119, L. 8.
Fasc. 4. - LUIGI RAGGI, *Il potere discrezionale e la facoltà regolamentare*. Vol. in-8 di pag. 20, L. 2.
Vol. II. - G. B. BRAVASCHI, *La moderna concezione filosofica dello Stato*. Vol. in-8 di pag. XII-472, L. 55.
Vol. III. - EMILIO ALBERTARIO, *Delictum e crimem nel diritto romano classico e nella legislazione giustiniana*. Vol. in-8 di pag. 80, L. 5.
Vol. IV. - GIOVANNI CARRARA, *Il boicottaggio*. Vol. in-8 di pag. 224, L. 12.

Serie Terza: SCIENZE SOCIALI. - Volume I.

- Fasc. 1. - ARISTIDE CALDERINI, *La composizione della famiglia secondo le schede di censimento dell'Egitto romano*. Vol. in-8 di pag. 61, L. 5.
Fasc. 2. - LUIGI CORSI, *L'applicazione dei principî evangelici nei rapporti internazionali*. Vol. in-8 di pag. 40, L. 4.
Vol. II. - JACOPO MAZZEI, *Politica economica internazionale inglese prima di Adamo Smith* (in corso di stampa).

Serie Quarta: SCIENZE FILOLOGICHE.

- Vol. I. - GIUSEPPE GHEDINI, *Lettere cristiane nei papiri greci del III e IV secolo*. Volume in-8 di pag. 376, L. 18.

Serie Quinta: SCIENZE STORICHE.

- Vol. I. - GIOVANNI SORANZO, *La lega italica (1454-1455)*. Vol. in-8 di pag. 215, L. 12.

Serie Sesta: SCIENZE BIOLOGICHE.

- Vol. I. - GIUSEPPINA PASTORI, *Sulla Ematoporfiria sperimentale da benzolderivati*. Vol. in-8 di pag. 32, L. 3.



