

DOTT. C. GIORDANO E DOTT. L. RIGOLETTI

## Sulla ricerca della colina libera nel sangue

Estratto dagli Atti del XLII Congresso  
della Società Italiana di Medicina Interna  
(Roma, Ottobre 1936-XIV)



ROMA

CASA EDITRICE LUIGI POZZI

1937

*Handwritten:*  
B  
56  
13



DOTT. C. GIORDANO E DOTT. L. RIGOLETTI

---

# Sulla ricerca della colina libera nel sangue

---

Estratto dagli Atti del XLII Congresso  
della Società Italiana di Medicina Interna  
(Roma, Ottobre 1936)

---



R O M A  
CASA EDITRICE LUIGI POZZI

---

1937

---

PROPRIETÀ LETTERARIA

---

Roma, Stab. Tip. Ditta Armani di M. Courier.

---

CLINICA MEDICA DELLA R. UNIVERSITÀ DI TORINO  
direttore prof. Sen. FERDINANDO MICHELI.

## Sulla ricerca della colina libera nel sangue.

Dott. C. GIORDANO e Dott. L. RIGOLETTI.

I primi AA. che si occuparono della ricerca della colina nel sangue ricorsero a metodi biologici, fondati sulla trasformazione di quella sostanza in acetilcolina (GUGGENHEIM e LÖFFLER, HUNT, PAGE e SCHMIDT, ecc.). Questi metodi hanno l'inconveniente di una limitata precisione, di una non sicura specificità e di notevoli perdite di colina.

Tra i procedimenti chimici merita il primo posto quello di KAPFFHAMMER, BISCHOFF e GRAB, i quali partendo da un filtrato alcoolico dealbuminizzato di 1 litro di sangue hanno precipitato il « reineckato » di colina e di acetilcolina e da questo hanno preparato il cloroaurato. Questo metodo, applicato anche da altri AA. con poche varianti nella tecnica della preparazione del filtrato dealbuminizzato di sangue (DUDLEY, VOGELFANGER, ETTINGER e HALL, LOACH, KAHLSON), non è — secondo AMMON — così specifico come sostengono gli AA. che lo hanno escogitato e ad ogni modo richiede quantità di sangue troppo forti ed è troppo complesso per poter essere impiegato nelle ricerche cliniche.

WREDE e BRUCH, basandosi su precedenti ricerche di WREDE, STACK e BORNHOFEN, hanno istituito un procedimento col quale dal sangue defibrinato e dealbuminizzato con acqua bollente o con alcool si precipita un sale doppio di colina e di cloruro di mercurio, che viene poi trasformato in cloroaurato. Anche questo metodo non è stato esente da critiche ed esso pure ha l'inconveniente di abbisognare di almeno 500 cc. di sangue.

Infine sono stati proposti metodi basati su quello di ROMAN, che consiste nella formazione di cinnaioduro di colina, il cui iodio viene dosato mediante tiosolfato sodico. Dal metodo originale di J. SCHMITH, STARPE sono derivati quello di MAXIM e quello di BOHN, SCHLAPP e STERN su piccole quantità di sangue (10-20 cc.); la complessità delle manipolazioni, tra cui una dialisi che può cagionare forti perdite della sostanza ricercata, e la possibilità di combinazioni dello iodio con altre sostanze oltre che con la colina rendono mal sicuri questi metodi.

La BOLAFFI ha ideato un procedimento, impiegato su 5 cc. di siero, che dovrebbe semplificare molto la ricerca della colina nel sangue, evitando laboriose operazioni richieste da una completa dealbuminazione e dall'estrazione dei lipoidi: dal filtrato alcoolico del siero si precipita il fosfowolframato di colina; questo sale viene scisso mediante ebollizione con idrato di bario e la colina così liberata viene combinata con lo iodio secondo il metodo di ROMAN.

Gli AA. hanno provato il metodo della BOLAFFI su 5-20 cc. di siero, ma hanno constatato che esso, ben lungi dal possedere la sensibilità e la precisione dichiarata dall'ideatrice, è assolutamente infido per l'incostanza dei risultati ottenuti da campioni dello stesso siero.

Gli AA. si sono quindi dedicati alla ricerca di un metodo che permetta un preciso dosaggio della colina su quantità di sangue non troppo grandi, ispi-

randosi per la fase finale del procedimento alla tecnica di LINTZEL e FORMIN per la determinazione delle lecitine del sangue, basata sulla trasformazione della colina in trimetilamina.

Dapprima, nell'intento di ottenere un composto il più possibile puro, gli AA. hanno ideato una serie di manipolazioni che dovevano condurre alla formazione di un sale doppio di colina e biclورو di mercurio: 100 cc. di sangue venivano versati direttamente dalla vena in 900 cc. di alcool etilico a 95°; il filtrato alcoolico veniva tirato a secco a temperatura ambiente in un ampio recipiente sotto corrente d'aria; il residuo ripreso con acqua era ripetutamente trattato con cloroformio per allontanare i lipoidi; dopo l'estrazione cloroformica si faceva passare una corrente d'aria attraverso al liquido, reso leggermente alcalino al tornasole con carbonato di sodio, allo scopo di asportare l'eventuale trimetilamina libera. Con acido fosfowolframico si precipitava il fosfowolfrato di colina; questo sale — liberato dal liquido sovrastante — era trattato a caldo con acido cloridrico fino a secchezza. Il residuo contenente cloruro di colina era ripreso con alcool e filtrato. Dal filtrato alcoolico si precipitava, mediante l'aggiunta di soluzione satura di biclورو mercurico, il sale doppio di cloruro di colina e biclورو di mercurio. Questo ultimo composto era trattato all'ebollizione e sotto aspirazione con idrato potassico e permanganato potassico in un distillatore a cui erano asseriati un recipiente contenente formalina e idrato potassico e un recipiente contenente una quantità nota di acido solforico N/50 destinato a legare la trimetilamina formatasi per idrolisi dalla colina. Dalla titolazione iodimetrica dell'acido solforico non legato alla trimetilamina si risaliva alla quantità di colina contenuta nel sale doppio.

Prove preliminari di distillazione di 4,6 mgr. di trimetilamina hanno dato una perdita inferiore al 10 %. Prove di scissione di 5-10 mgr. di cloruro di colina hanno rilevato una perdita del 15-20 %.

Gli AA. hanno verificato la necessità dell'impiego del permanganato potassico e di una lunga ebollizione per l'idrolisi della colina, perchè questa sostanza in soluzioni molto diluite resiste anche all'ebollizione con alcali forti. Infine gli AA. hanno constatato che il sale doppio di cloruro di colina e di biclورو di mercurio è il meno adatto, perchè dà luogo a perdite troppo forti e si sono convinti che era miglior partito procedere all'idrolisi diretta della colina contenuta nel filtrato di sangue dealbuminato e sgrassato.

Gli AA. hanno pure osservato che il semplice passaggio per 6-8 ore di una corrente d'aria attraverso a 5 cc. di soluzione N/50 di acido solforico, sia pure dopo gorgogliamento in una miscela di idrato potassico e formalina, provoca una perdita di circa il 5 % di acido solforico. Di questo fatto va tenuto conto nel vagliare i risultati della determinazione.

Infine gli AA. hanno sostituito all'estrazione cloroformica l'ultrafiltrazione attraverso membrana di collodio della soluzione acquosa del residuo secco ottenuto dall'estratto alcoolico. Per quel che riguarda la specificità del procedimento è da notare che oltre alla colina, l'acetilcolina, la neurina, l'aldeide betainica e la carnitina danno luogo a formazione di trimetilamina per idrolisi in ambiente alcalino ed in presenza di permanganato potassico (LINTZEL e FORMIN). Tutte queste sostanze hanno azione simile a quella della colina e difficilmente possono essere isolate dalla colina anche con le precedenti tecniche.

La prova con l'aggiunta di 10 mgr. di cloruro di colina a 50 cc. di sangue ha permesso la dimostrazione di circa l'80 % della sostanza.

Ulteriori esperimenti sono in corso per affinare il metodo in ogni suo particolare e renderlo di facile attuazione nella ricerca clinica.

53447

318195



# "IL POLICLINICO,"

PERIODICO DI MEDICINA, CHIRURGIA E IGIENE

fondato nel 1893 da Guido Baccelli e Francesco Durante  
diretto dai proff. CESARE FRUGONI e ROBERTO ALESSANDRI

Collaboratori: Clinici, Professori e Dottori italiani e stranieri

Si pubblica a ROMA in tre sezioni distinte:

**Medica - Chirurgica - Pratica**

## IL POLICLINICO

nella sua parte originale (Archivi) pubblica i lavori dei più distinti clinici e cultori delle scienze mediche, riccamente illustrati, sicchè i lettori vi troveranno il riflesso di tutta l'attività italiana nel campo della medicina, della chirurgia e dell'igiene.

## LA SEZIONE PRATICA

che per sé stessa costituisce un periodico completo, contiene lavori originali d'indole pratica, note di medicina scientifica, note preventive, e tiene i lettori al corrente di tutto il movimento delle discipline mediche in Italia e all'estero. Pubblica accurate riviste in ogni ramo delle discipline suddette, occupandosi soprattutto di ciò che riguarda l'applicazione pratica. Tali riviste sono redatte da studiosi specializzati.

Non trascura di tenere informati i lettori sulle scoperte ed applicazioni nuove, sui rimedi nuovi e nuovi metodi di cura, sui nuovi strumenti, ecc. Contiene anche un ricettario con le migliori e più recenti formule.

Pubblica brevi ma sufficienti relazioni delle sedute di Accademie, Società e Congressi di Medicina, e di quanto si viene operando nei principali centri scientifici.

Contiene accurate recensioni dei libri editi recentemente in Italia e fuori.

Fa posto alla legislazione e alla politica sanitaria e alle disposizioni sanitarie emanate dal Ministero dell'Interno, nonché ad una scelta e accurata Giurisprudenza riguardante l'esercizio professionale.

Prospetta i problemi d'interesse corporativistico e professionale e tutela efficacemente la classe medica.

Reca tutte le notizie che possono interessare il ceto medico: Promozioni, Nomine, Concorsi, Esami, Cronaca varia, dell'Italia e dell'Estero.

Tiene corrispondenza con tutti quegli abbonati che si rivolgono al « Policlino » per questioni d'interesse scientifico, pratico e professionale.

A questo scopo dedica rubriche speciali e fornisce tutte quelle informazioni e notizie che gli vengono richieste.

## LE TRE SEZIONI DEL POLICLINICO

per gli importanti lavori originali, per le copiose e svariate riviste, per le numerose rubriche d'interesse pratico e professionale, sono i giornali di medicina e chirurgia più completi e meglio rispondenti alle esigenze dei tempi moderni.

ABBONAMENTI ANNUI PER IL 1923		Italia	Estero
Singoli:		—	—
1) Alla sola sezione pratica (settimanale)	L. 58.80	L. 100	L. 100
1-a) Alla sola sezione medica (mensile)	» 50	» 60	» 60
1-b) Alla sola sezione chirurgica (mensile)	» 50	» 60	» 60
Completivi:			
2) Alle due sezioni (pratica e medica)	» 100	» 150	» 150
3) Alle due sezioni (pratica e chirurgica)	» 100	» 150	» 150
4) Alle tre sezioni (pratica, medica e chirurgica)	» 125	» 180	» 180
Un numero della sezione medica e chirurgica L. 3.50			

Il Policlino si pubblica sei volte l'anno.

La Sezione medica e la sezione chirurgica si pubblicano ciascuna in fascicoli mensili illustrati di 32-44 pagine ed oltre, che in fine d'anno formano due distinti volumi.

La sezione pratica si pubblica una volta la settimana in fascicoli di 22-24 pagine, oltre la copertina.

— Gli abbonamenti hanno unica decorrenza dal 1° di gennaio di ogni anno —  
L'abbonamento non dissolto prima del 1° dicembre, si intende confermato per l'anno successivo.

Indirizzare Vaglia postale, Chèques e Vaglia Bancari all'Editore del « Policlino », LUIGI POZZI

UFFICI DI REDAZIONE E AMMINISTRAZIONE: Via Salaria, 14 — ROMA (Telefono 42-300)