

PRIME ESPERIENZE SULL'AZIONE FOTODINAMICA  
IN RAPPORTO ALLE OSSIDAZIONI  
SU LARVE DI ANFIBI(\*)

ENRICO URBANI

*SUMMARY.* --- Auctor observata quaedam refert, quibus patet quanti sit momenti oxygenum in phaenomeno photodynamico de quo in amphibiorum larvis investigetur. Constat oxygeni absentiam non obstare photodynamicae actioni, nimia autem oxigeni abundantia hanc actionem retardari.

Il fenomeno fotodinamico è provocato da molte sostanze le quali introdotte in un soggetto rimangono completamente inerti finchè l'organismo è tenuto all'oscurità o a luce attenuata; non appena l'individuo è esposto alla luce solare diretta o ad una luce molto viva insorgono episodi convulsivi che portano alla morte. Tale fenomeno è dato dall'eosina, rossoneutro, bleu di metilene, metilvioletto, acridina e da molti altri composti organici i quali in soluzione acquosa presentano il fenomeno della fluorescenza.

Si ignora quale sia il meccanismo causale dell'azione fotodinamica. Alcuni autori suppongono che le sostanze fluorescenti esposte alla luce diano origine a fotocomposti di ignota struttura a carattere tossico. Altri vorrebbero spiegare il fenomeno come una conseguenza del salto d'onda luminosa che si verifica in seno ad una sostanza fluorescente quando questa viene colpita dalla luce (Legge di STOKES) con conseguente liberazione di energia. Tale energia operando sui tessuti di un organismo potrebbe essere responsabile del fenomeno fotodinamico.

---

(\*) Nota presentata dall'Accademico Pontificio Filippo Silvestri il 15 febbraio 1945.

Molti autori che si sono occupati del problema insistono sulla importanza che avrebbe l'ossigeno nel determinismo dell'azione fotodinamica ritenendola legata ai fenomeni ossidativi o per una esaltazione di questi ultimi nei soggetti in esame o perchè l'ipotetico fotocomposto non si formerebbe in ambiente nel quale è stato sottratto l'ossigeno<sup>(1)</sup>. L'ossigeno sarebbe quindi indispensabile perchè il complesso luce-fluorescenza si riveli letale sui soggetti in esperimento. È infatti dimostrato che i globuli rossi sfuggono al potere emolizzante delle sostanze fluorescenti quando vengono posti in tubi di vetro nei quali è stato praticato il vuoto. L'azione fotodinamica è stata sperimentata sui materiali più diversi: protozoi, batteri, animali superiori e vegetali.

Si è cercata anche l'importanza del fenomeno fotodinamico nella patologia umana (genesì della pellagra).

In questa nota intendo esporre i risultati di una prima serie di esperienze da me compiute, nell'Istituto di Anatomia comparata di Roma, per saggiare gli effetti del fenomeno fotodinamico in rapporto alla presenza e all'assenza di ossigeno nei soggetti da esperimento. Come materiale ho scelto i girini di *Rana esculenta* all'inizio del periodo larvale cioè quando il vitello è stato completamente riassorbito e variano le condizioni del metabolismo (COTTONER). Come sostanza fotodinamica ho usato l'eosina in soluzione acquosa (acqua Pia Marcia) nella concentrazione di 1/5000.

Espongo brevemente i risultati ottenuti rimandando per una particolareggiata descrizione al lavoro in esteso di prossima pubblicazione.

I girini nella soluzione di eosina vivono benissimo all'oscurità o a luce attenuata. Esposti alla luce solare sono presi da episodi convulsivi alternati a periodi di torpidità e dopo circa 40' muoiono.

È agevole dividere i risultati delle esperienze eseguite in diversi gruppi:

*1° gruppo.* — Il fenomeno fotodinamico si svolge più rapidamente in recipienti nei quali la superficie di contatto delle soluzioni di eosina, nella quale sono i girini, con l'aria è ridotta.

---

(<sup>1</sup>) LEDOUX LEBARD, « Ann. de l'Inst. Pasteur », 1902, 16, 587; JODLBAUER e v. TAPPEINER, « Ergebn. der Physiol. », 1909, 8, 698; SELLARDS, « Jour. Research », 1918, 38, n. 203; BLUM, « Biol. Bull. », 1930, 58, 224 e 1930, 59, 81.

2° gruppo. — Producendo in un tubo di vetro nel quale vi è la soluzione di eosina con i girini, il vuoto leggero a mezzo di una pompa ad acqua il fenomeno fotodinamico è accelerato rispetto a soggetti in eosina in un tubo di controllo nel quale non è stata praticata una depressione di ossigeno.

3° gruppo. — Facendo gorgogliare aria nel recipiente nel quale vi è la soluzione di eosina con i girini si ha un ritardo della morte dei soggetti rispetto ad un controllo che viene mantenuto semplicemente scoperto.

4° gruppo. — I girini sono stati trattati con KCN in dosi tali da produrre l'immobilità ma non la morte. In questo modo si ha un blocco parziale delle ossidazioni intraorganiche. In questi soggetti il fenomeno fotodinamico insorge più rapidamente che non nei controlli che non sono stati trattati con KCN.

5° gruppo. — I girini sono stati trattati con feniluretano in dosi tali da produrre l'immobilità ma non la morte. Poichè il feniluretano ha la proprietà di bloccare anche i sistemi del tipo « deidrogenasi » anche con questa tecnica si ha un'inibizione dei processi ossidativi. I risultati sono stati eguali a quelli ottenuti con il KCN.

6° gruppo. — Si è creato ai girini immersi in eosina un ambiente asfittico a mezzo di idrosolfito sodico e carbonato sodico. Tale condizione permette la vita per un certo tempo all'oscurità ma non alla luce dove il fenomeno fotodinamico si svolge più rapidamente che nei controlli tenuti in eosina.

Altre esperienze hanno inoltre dimostrato:

a) che il fenomeno fotodinamico non ha luogo in girini immersi nella sostanza fluorescente previamente esposta anche molto a lungo alla luce solare, contrariamente a quanto aveva visto LEDOUX LEBARD sui parameci (*loc. cit.*);

b) che per provocare la morte dei girini basta la quantità di eosina penetrata nell'interno dell'organismo e che il volume di liquido fluorescente nel quale è il soggetto non entra in gioco agli effetti biochimici;

c) che il fenomeno fotodinamico si verifica qualunque sia l'angolo di incidenza della luce nella sostanza fluorescente.

## CONCLUSIONI

Le esperienze compiute, più volte ripetute, hanno dato risultati concordi. La sottrazione di ossigeno dal liquido ambiente porta ad una esaltazione del fenomeno fotodinamico contrariamente a quanto aveva visto sui parameci LEDOUX LEBARD.

È bene pensare però che le condizioni, di anaerobiosi diminuiscono la resistenza organica e quindi la capacità di reazione delle larve verso gli effetti fotodinamici.

Un arricchimento in ossigeno del liquido ambiente rallenta il fenomeno fotodinamico ma non lo inibisce.

Blocchi ossidativi prodotti dal cianuro di potassio e dal feniluretano rendono più rapida l'azione letale della sostanza fluorescente. È però da tener presente che in queste esperienze agisce anche la tossicità della sostanza usata che diminuisce la resistenza organica dei soggetti in esperimento.

I risultati illustrati mostrerebbero quindi che le condizioni di anaerobiosi non arrestano l'azione delle sostanze fluorescenti come si sarebbe potuto supporre in base alle ipotesi formulate da altri autori e già ricordate che tali sostanze agissero per una esaltazione delle ossidazioni intraorganiche o per formazione di fotocomposti per i quali sarebbe stata necessaria la presenza di ossigeno. Non voglio con ciò infirmare i risultati ottenuti da SELLARDS ed altri sulla inibizione della emolisi fotodinamica in ambiente nel quale è stato praticato il vuoto. Rimane stabilito che una sottrazione di ossigeno ambiente comunque venga praticata e una depressione dei fenomeni ossidativi a carico dei girini di *Rana esculenta* non hanno effetto protettivo verso l'azione della sostanza fluorescente in presenza della luce.