

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA NAZIONALE
DEI LINCEI

ANNO CCCXX
1923

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXXII.

1° SEMESTRE.



ROMA

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

1923

Patologia. — *Sulla natura chimica del principio attivo nella vaccinoterapia* (1). Nota del prof. E. CENTANNI, presentata dal Corrisp. LOMONACO.

Che la funzione dei vaccini impiegati come curativi — vaccinoterapia — si svolga totalmente distinta da quella dei vaccini impiegati come preventivi — vaccinoprofilassi —, risulta da molteplici caratteristiche, di cui tre fondamentali:

1°) che il vaccino riesce ad influire sulla malattia nel pieno del suo decorso;

2°) che l'azione risolutiva si svolge quasi immediatamente dopo la iniezione;

3°) che il vaccino preparato con un germe vale, entro certi limiti, anche per infezioni da germi diversi.

L'esistenza di una immunità a sè poggiata su queste basi, in contrasto con la sierologica, trovò la sua prima affermazione negli studi del Centanni (1895), il quale, cercando di ripetere nelle infezioni sperimentali la caduta critica della polmonite crupale mediante un vaccino che imitasse il più d'avvicino il processo del focolaio epatizzato — pneumococco autolizzato in mezzo riccamente leucocitario —, trovò che tal materiale non solo proteggeva, ma anche troncava nettamente infezioni in pieno sviluppo; riusciva inoltre attivo contro infezioni e veleni diversi. Come sigillo di individualizzazione diè alla nuova forma il nome di *Immunità stomogene* (2).

Definitivo riconoscimento nella scienza questa immunità ha acquistato col recente risorgere (1915), nei lavori fondamentali di R. Kraus, Ishikawa, R. Schmidt, Lüdke, Weichardt, seguiti da infinito numero di altri, sotto la forma di Proteino- e Vaccinoterapia aspecifica, la quale, trasportando le prove sull'uomo, ha reso indiscusso di questa pratica: 1° il valore terapeutico, che cioè in malattie a florido sviluppo, particolarmente nel tifo, mediante tal genere di iniezione si riesce, in una forte proporzione di casi, a portare, anche nel giro di 6-8 ore, la malattia a risoluzione definitiva; 2° le caratteristiche biologiche, rappresentate da una serie ben definita di modificazioni, nel sangue e negli organi, che accompagnano lo svolgersi della risoluzione stessa.

(1) Lavoro eseguito nell'Istituto di Patologia generale della R. Università di Modena.

(2) E. Centanni *Les stomoosines, nouveaux produits immunisants*. Arch. ital. de Biologie, 1897.

Assicurati così i fatti e illustrata la parte, diremo, estrinsecativa della reazione, in queste modificazioni biologiche e terapeutiche, gli sperimentatori hanno rivolto i loro sforzi ai quesiti più intimi: quale è il principio attivo e come esso opera sopra l'organismo.

La ricerca sul principio attivo fu aperta dal lavoro del Centanni (1): *La depurazione dei vaccini a scopo curativo* (1896), la quale, proseguita attraverso tentativi, non sostenuti, anzi contrastati dalla comune corrente immunitaria, è arrivata a ridurre il principio terapeutico ad un prodotto abiuretico di grande concentrazione e potenzialità, quale è quello fin dal 1915 entrato nella pratica.

*
* *

Esponiamo in particolare il procedimento seguito per la depurazione del vaccino antiftico, siccome quello di meglio accertata efficacia e di più controllabile potenzialità sopra la infezione umana.

Patine batteriche, sviluppate per due giorni sull'agar comune, vengono sottoposte a rapidi e ripetuti lavaggi alla centrifuga, a fine di allontanarne ogni aderenza di terreno di coltura. Riuscirebbe pure a questo intento il praticare la coltura in terreno apteico (liquido di Uschinsky e simili); ma sembra preferibile il metodo adottato, che non mette in condizioni troppo artificiali la vita del germe e quindi il suo ricambio.

La patina viene emulsionata in acqua distillata e lasciata al termostato per dieci giorni. A questo punto, mediante filtrazione per candela, si separano dai batteri i prodotti diffusi, e il liquido, concentrato a bassa temperatura fino a consistenza sciropposa, viene sottoposto a precipitazione in alcool e il precipitato lavato in etere. La parte di questo che si ridiscioglie in acqua, messa a dializzare attraverso membrana animale, lascia, dopo due giorni, diffondere tutta la sostanza attiva nel liquido esterno, che, concentrato a bassa temperatura, viene impiegato per le analisi.

Questo procedimento segue nelle sue linee essenziali quello introdotto dal Centanni (2) per l'isolamento della pirotossina o veleno febbrile, dove fu per la prima volta stabilito il *carattere abiuretico* di questo genere di prodotti a proprietà reattiva. Di particolare è il dover evitare in questa preparazione l'alta temperatura, che danneggia in grado considerevole il potere terapeutico.

Data la attività sotto il più esiguo volume propria del principio attivo, allo scopo di raggiungere una sufficiente sensibilità alle analisi viene impie-

(1) E. Centanni, *La depurazione dei vaccini a scopo curativo*. Il Policlinico, sezione medica, 1896.

(2) E. Centanni, *Untersuchungen über das Infectionsfieber. I Das Fiebergift der Bakterien*. Deut. med. Woch. n. 44 e 45, 1893. La Rif. medica, 1893.

gata per le prove una dose considerevole, di materiale, circa 500-1000 dosi terapeutiche.

1°) *Reazioni precipitanti:*

Bollitura in soluzione neutra o leggermente acida: nessun precipitato.
Saturazione con solfato di ammonio: nessun precipitato.
Ferrocianuro di potassio e acido acetico: nessun precipitato.
Soluzione di tannino: ricco precipitato.
Soluzione di acido fosfotungsticico: opalescenza.
Alcool forte: precipitato abbondante.

2°) *Reazioni colorate:*

Reazione del biuret: negativa.
Reazione del Millon: negativa.
Reazione alla ninidrina: accenno di bleu.

3°) *Agenti decomponenti:*

Breve ebollizione: resiste in parte.
Digestione peptica e tripsica: viene inattivata.
Dialisi: passa con media rapidità.
Etere, cloroformio: non disciolgono, nè inattivano.

Come carattere fondamentale risulta che il principio attivo della vaccinoterapia, la stomosina, come noi l'abbiamo chiamata, non è, nè proteina nativa e neanche fra i primi prodotti di scissione, albumosa e peptone, data l'assenza della reazione del biuret. Probabilmente rientra fra i polipeptidi inferiori, non già fra i semplici amino acidi, perchè questi non sono ulteriormente scissi dai fermenti digestivi.

*
*
*

Nelle ricerche, a cui con simile intento si sono dati altri sperimentatori, il carattere abiuretico trova la conferma per principi di analoghe proprietà, quattro da citare in particolare:

1°) Il Weichardt⁽¹⁾ difende il concetto che la proteinoterapia agisca col meccanismo della "Protoplasmaaktivierung", e che gli agenti sieno rappresentati da prodotti di scissione non troppo bassa delle proteine. In conformità è riuscito ad estrarre dai tessuti un principio che agisce da *eccitante sulle attività* dei batteri e dei tessuti, principio risultato appunto di natura abiuretica.

2°) Lo Heilner⁽²⁾, seguendo per la preparazione dei materiali proteinoterapici il criterio della specificità, ne fa l'estrazione dall'organo eguale

(1) W. Weichardt, *Leistungssteigerung als Grundl. d. Proteinkörpertherapie*. Ergebn. d. Hyg., Bakt., Immun. ecc., Bd. 5, 1922.

(2) E. Heilner, *Affinitätskrankheiten und lokaler Gewebsschutz (Affinitätschutz)*. Jahresb. f. ärzt. Fortbildung, 1921. Münch. med. Woch., n. 15, 1921.

a quello che deve esser curato: così la *Sanarthrit* dalle cartilagini articolari. Questo genere di preparati è pure esso abiuretico e nondimeno sviluppa un potere curativo e una reazione perfettamente corrispondente a quella delle proteine intere.

3°) La *tubercolina*, la cui azione ha tutte le caratteristiche per rientrare nell'orbita di queste reazioni, è stata dalle ricerche di Löwenstein e Pick⁽¹⁾, confermate di recente da quelle dello Ziemer, riconosciuta come prodotto abiuretico.

4°) Al *peptone* compete, come si sa, per le prove specialmente del Nolf, la capacità di influenzare beneficamente le infezioni col quadro della reazione tipica. Orbene, Pick e Spiro⁽²⁾ hanno dimostrato che l'azione propria del peptone non è legata alla presenza di peptone e albumosa, ma ad un corpo ancora ignoto a sé — quindi abiuretico — che essi hanno chiamato « peptozima ».

Aggiungeremo come in questi ultimi tempi si sia cercato di identificare il principio attivo dell'anafilassi, e insieme anche della proteinoterapia, del riassorbimento di tessuti offesi e del peptone, con un corpo definito, la *istamina*, che si genera per decarbonizzazione della istidina. Sebbene la identificazione non risulti completa, il tentativo indica nondimeno che per questo genere di effetti si è sempre nell'orbita chimica che discutiamo.

In conclusione, materiali a carattere reattivo di cinque fra le più diverse sorgenti e preparazioni, si trovano tutti a collimare nell'essere rappresentati da piccole frazioni della grossa molecola proteica col carattere abiuretico. Il riconoscimento di questa proprietà nei vaccini curativi apre l'adito ad alcune deduzioni importanti.

In primo posto, riguardo alla *terminologia* della nuova pratica terapeutica, non è esatto il termine di Proteinoterapia (Schmidt), non rappresentando il principio attivo una proteina; neanche esatto è il termine di Colloidoterapia (Luitlen, Widal), essendo pure escluso il carattere colloide; preferibile il nostro termine di Stomoterapia, terapia tempratrice, che trova ora l'assenso nel concetto analogo incluso dal Weichardt nella « Protoplasmaaktivierung ».

Di maggior valore è una deduzione pratica. Il principio, così liberato da mescolanza di proteine, va esente dalla *capacità anafilattizzante*, la quale, sappiamo, cessa col subentrare della fase peptonica: superiorità decisa sui preparati proteinoterapici greggi — siero, latte, ecc. — che tale capacità rende pericolosi nelle cure continuate e in particolare per iniezione endovenosa.

(1) Löwenstein u. Pick, *Beiträge zur Kenntnis des Tuberkulins*. Bioch. Zeitschr., Bd. 31, S. 142, 1911.

(2) Pick u. Spiro, *Ueber die Peptonwirkung*. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 31, S. 235, 1900-1901.

* * *

Vediamo ora qual'è la *dose del preparato* sufficiente all'effetto curativo. Un criterio ci viene fornito dal sapere per le prove del Micheli e del Moreschi che pel tifo basta $1/500$ e financo $1/1000$ di ansa di 2 mgr. di patina batterica: da cui sottratta la parte acquosa e considerando che non tutto il corpo batterico è materiale attivo, si arriva certamente vicino a $1/\text{bilione}$ di grammo.

Dato che dose sì impercettibile, introdotta in un organismo del volume dell'uomo e così profondamente compenetrato di batteri e veleni e offeso in tutti gli organi, siccome è il tifoso, vale ad imprimere una scossa tale che in poco d'ora lo risana, è necessario ammettere che tal genere di agenti porti condensata, sotto il minimo volume, la più poderosa energia. Ciò induce a pensare che entro la molecola proteica esistano de' *centri o nuclei energetici*, minuti e potentissimi, che animano forse il resto della molecola: nuclei in apparenza inerti finchè in presenza di nuclei estranei, ma, venuti ad incontrarsi col nucleo corrispondente, capaci di sprigionare scariche di conseguenze biologiche imponenti.

Qui si affaccia un quesito singolare. Come mai l'organismo del tifoso che *alberga in sé*, nel sangue e nei focolai, miriadi di bacilli, non riesce a guarire che lentamente e attraverso grave rischio; laddove quel bilione degli stessi bacilli, *introdotto dall'esterno*, vale a sprigionare d'improvviso una spinta alla piena salute? È la domanda stessa che si può ripetere per la tubercolina: l'organismo tubercoloso è inondato di prodotti bacillari, eppure $1/100$ di mgr. — e come principio attivo con le debite deduzioni ancor molto meno — di estratto di quegli stessi bacilli suscita una reazione che può arrivare ad esser mortale.

La spiegazione non può essere certamente altra, se non che la chimica che svolge il batterio entro l'organismo è fondamentalmente diversa da quella che svolge nelle colture e si genera col loro trattamento. Il fatto acquista ancor più significato, conoscendosi altri esempi di simile antagonismo per uno stesso materiale, quando fa parte dell'ambiente vivo e quando si separa da esso: tali, l'azione reattiva che acquista il sangue coagulando, quella propria del latte e dei versamenti iniettati nello stesso soggetto, e particolarmente la trasformazione tossica che subisce il siero nel trattamento con vari colloidi per la preparazione della cosiddetta anafilatossina in vitro.

Questa vicenda di contrarie trasformazioni induce ad ammettere che i nuclei energetici sieno capaci di opposta polarità, in senso non solo fisico, ma insieme chimico specifico; e che cause che a noi paiono leggere, ma in realtà biologicamente forti, quali l'estrazione e i trattamenti fuori dell'orga-

nismo, e in ogni caso il corso regressivo delle reazioni post mortali, valgono a trasformare l'un polo nell'opposto, nel suo antipodo. Ed allora si comprende come questo antipodo, incontrandosi col suo omologo nell'organismo, possa dar luogo ad una scarica così subitanea e intensa.

Tutti i fenomeni a base reattiva sarebbero quindi da interpretarsi sulla base di *inversione di polarità*. Si apre con questo un campo di ricerca di sommo interesse: sia nel rapporto biologico, per illustrare in qual modo e con quali agenti questa inversione venga promossa; sia dal lato terapeutico, per trasformare i prodotti nocivi nei corrispondenti agenti di cura.

Patologia. — *Sul processo eritrocateretico negli uccelli (piccioni) con speciale riguardo alle relazioni tra eritrocateresi splenica ed epatica* ⁽¹⁾. Nota del dott. LIBORIO GALIFI, presentata dal Socio E. MARCHIAFAVA.

Per consiglio del prof. Dionisi intrapresi due serie di ricerche sperimentali cogli scopi seguenti.

I. Con un primo gruppo di ricerche cercai di determinare, con l'analisi istologica, le particolarità del processo eritrocateretico compiuto dagli elementi del reticolo della milza e del fegato in piccioni anemizzati con pirodina, alcuni dei quali furono precedentemente smilzati.

II. Il secondo gruppo di ricerche fu fatto con lo scopo di vedere i rapporti tra alterazioni del fegato e della milza, provocando una alterazione grave del fegato a mezzo della legatura del dotto coledoco e studiando successivamente le modificazioni della milza, sia in piccioni con semplice legatura del coledoco, sia in piccioni così trattati ed anemizzati.

I^a SERIE.

I risultati del primo gruppo di ricerche collimano con quelli ottenuti da Aschoff su piccioni avvelenati con idrogeno arsenicale e con quelli ottenuti dal Lepehene in ratti smilzati. Difatti:

1°) Nei piccioni sacrificati o morti in seguito a semplice anemia sperimentale, si ottenne costantemente intenso colorito itterico della cute e delle congiuntive, ed all'esame microscopico si rilevò una evidente azione emocateretica delle cellule di Kupffer, che in tutti i campi dei preparati apparivano enormemente aumentate di volume, sino a superare la grandezza delle cellule epatiche e ripiene di residui di globuli rossi. Altra constatazione di non minore interesse era l'aspetto emolitico della milza caratterizzato dalla

(1) Lavoro eseguito nell'Istituto d'Anatomia patologica della R. Università di Palermo diretto dal prof. Antonio Dionisi.