

20. Antonio PALA. — **Azione antiallergica della piressia provocata sui fenomeni di ipersensibilità serica nel coniglio.** - (Ipersensibilità generale: shock anafilattico ed ipersensibilità locale cutanea: fenomeno di Arthus).

Riassunto. — L'A., sulla scorta di fatti clinico-sperimentali già acquisiti sull'azione antiallergica della febbre, ha saggiato l'azione della piressia provocata con mezzi chimici sui fenomeni di ipersensibilità serica del coniglio (*ipersensibilità serica locale o fenomeno di Arthus* ed ipersensibilità generale o shock anafilattico).

In due serie di conigli si è ottenuto:

1) In tutti gli animali, che erano stati sottoposti a sensibilizzazione per via endovenosa con unica larga dose di siero normale di cavallo, l'ipersensibilità stessa si è rivelata costante in XI-XIV giornata saggiata con un test cutaneo (fenomeno di Arthus), ed in XV-XVII giornata con lo shock generale grave o mortale a seguito di reiniezione endovena dell'antigene.

2) Negli animali che, tra sensibilizzazione e scatenamento erano stati sottoposti ad attacchi iperpiretici ripetuti, i fenomeni di ipersensibilità generale (shock anafilattico mortale od almeno grave) sono costantemente mancati; ed i fenomeni di *ipersensibilità serica locale* (fenomeno di Arthus) sono stati assenti o notevolmente limitati (10 animali su 11 in esperimento).

Résumé. — L'Auteur, s'aidant de connaissances déjà acquises de clinique expérimentale sur l'action antiallergique de la fièvre, a effectué des essais sur l'action de la pyrexie provoquée par des moyens chimiques sur les phénomènes d'hypersensibilité sérique du lapin (*hypersensibilité sérique locale ou phénomène d'Arthus* et hypersensibilité générale ou choc anaphylactique).

Dans deux séries de lapins on a obtenu:

1) Dans tous les animaux qui avaient été soumis à sensibilisation par voie intraveineuse avec une large dose unique de sérum normal de cheval, l'hypersensibilité s'est révélée constante dans la XI-XIV journée essayée par un test cutané (phénomène d'Arthus) et dans la XV-XVII

journée avec le choc général grave ou mortel à la suite d'une réinjection intraveineuse de l'antigène.

2) Dans les animaux qui, entre l'injection sensibilisante et l'injection déchaînante avaient été soumis à des attaques hyperpyrétiques répétées, les phénomènes d'hypensensibilité générale (choc anaphylactique mortel ou tout au moins grave) ont constamment manqué; et les phénomènes d'*hypersensibilité sérique locale* (phénomène d'Arthus) ont été absents ou notablement limités (10 animaux sur 11 expérimentés).

Summary. — The Author, with the aid of clinico-experimental results already attained on the antiallergic action of fever, has tested the action of pyrexia brought about by chemical means on the phenomenon of serum hypensensitiveness in the rabbit (*local serum hypersensitiveness or Arthus phenomenon* and general hypensensitiveness or anaphylactic shock).

In two series of rabbits the results were as follows:

1) In all of the animals which had been subjected to sensitization by intravenous injection of a single large dose of normal horse serum, the hypensensitiveness proved constant on the XI-XIV day tried with a cutaneous test (Arthus phenomenon), and on the XV-XVII day with the general severe or fatal shock following a reinjection of the antigen.

2) In the animals which between the sensitizing injection and the reacting injection had been subjected to repeated hyperpyretic attacks, the phenomena of general hypersensitiveness fatal or at least severe anaphylactic shock) have always been absent; and the phenomena of *local serum hypersensitiveness* (Arthus phenomenon) have been either absent or notably limited (10 animals out of 11 tested).

Zusammenfassung. — Auf Grund erworbener, klinisch experimenteller Tatsachen über die antiallergische Wirkung des Fiebers, hat der Verfasser die Wirkung, der durch chemische Mittel hervorgerufenen Pyrexie, auf Erscheinungen seröser Überempfindlichkeit des Kaninchens erprobt. (Lokale seröse Hypersensibilität oder Phänomen von Arthus und allgemeine Überempfindlichkeit oder anaphylaktischer Schock.

Aus zwei Serien on Kaninchen ergab sich:

1) In allen Tieren, welche der Sensibilisierung mit einer einzigen starken Dosis normalen Pferdeserums auf intravenösem Wege unterworfen wurden, erwies sich die Hypersensibilität als konstant am XI-XIV Tage, durch Prüfung mit kutanem Text (Phänomen von Arthus) und am XV-XVII Tage mit allgemeinem schwerem Schock nach endovenöser Wiedereinimpfung des Antigens.

2) Bei den Tieren, welche zwischen Sensibilisierung und Entfesselung, wiederholten hyperpyretischen Anfällen unterworfen waren, fehlten stets die Erscheinungen allgemeiner Hypersensibilität. (Tödlicher anaphilaktischer Schock oder zumindest schwerer Schock). Die Erscheinungen lokaler seröser Hypersensibilität (Phänomen von Arthus) fehlten oder waren sehr gering (10 auf 11 untersuchte Tiere).

Come è ben noto i fenomeni di ipersensibilità negli animali da esperimento iniziarono la dottrina della anafilassi al principio di questo secolo.

Se Richet aveva dimostrato l'ipersensibilità del cane di fronte ad una nuova minima reinoculazione di estratto di tentacolo di *Attinia*, tuttavia la notevole tossicità primaria della sostanza usata nell'esperienza impedisce a quest'ultima di essere presa a paradigma da chi voglia studiare il problema dell'anafilassi.

Meglio si prestano per tali studi i fenomeni di Maurizio Arthus, Theobald Smith, Sanarelli-Schwartzman e di R. Koch.

Il *fenomeno di M. Arthus* ^(1-bis) o *anafilassi serica locale* — consiste nel fatto che, se si iniettano ad un coniglio sottocute 5 cm³ di siero normale di cavallo ciascuna settimana, le prime iniezioni non portano nulla di notevole. Le successive producono un edema molle, che diviene più duro con il progredire delle iniezioni locali. Dopo la sesta iniezione l'infiltrato si trasforma in una massa spessa e compatta che permane per lungo tempo. Se si pratica una settima iniezione si forma una zona necrotica che si elimina lentamente e lentamente la zona cutanea passa a cicatrice.

Nota. — a) Sotto il nome di fenomeno di Arthus si può però comprendere il fenomeno di *ipersensibilità locale cutanea* anche quando la

^(1-bis) ARTHUS M. e BRETON M., Compt. rend. Soc. Biol., 55, 1478 (1903).

tecnica di provocazione di detto stato di ipersensibilità non è quella di provocarla attraverso una sensibilizzazione multipla *locale* con l'antigene specifico; essa sensibilizzazione può essere provocata anche per altra via, come già M. Arthus aveva detto nei suoi lavori: «... i fenomeni locali non sono la conseguenza della ripetizione delle iniezioni fatte sempre nello stesso punto, dal momento che si riproducono in seguito ad una nuova iniezione locale, mentre le precedenti erano state fatte nel peritoneo. [M. Arthus (¹)].

Per analogia non era illogico sensibilizzare per via *generale*, con l'iniezione, ad esempio, endovena di una unica larga dose di siero eterologo un adeguato lasso di tempo avanti di saggiare la ipereattività locale dell'animale in una parte qualsiasi del suo mantello cutaneo. Anche questa metodica di procedimento può essere considerata come « fenomeno di Arthus » se noi consideriamo che ciò che conta in questo fenomeno è « l'ipersensibilità locale serica » indipendentemente da quella che sia stata la via e il metodo di produrre la sensibilizzazione.

b) Inoltre nel coniglio si possono esaminare i fenomeni generali dello shock anafilattico (abbattimento, polipnea, torsioni coatte del capo, perdita delle feci, rovesciamento sul fianco ed infine convulsioni sotto forma di movimenti di fuga degli arti, seguiti dalla morte o meno nel giro di pochi minuti), e ciò quando la reinoculazione dell'antigene venga fatta endovena.

Nel nostro presente lavoro abbiamo preferito seguire e tener conto della metodica di esperimenti di cui alla lettera a) e b) della nota.

Per rispetto alla precisione storica aggiungiamo che originariamente M. Arthus aveva esplicitamente compreso, nel fenomeno che porta il suo nome, tanto i fenomeni generali della anafilassi (shock mortale o meno) quanto quelli della siero-anafilassi locale (infiltrazione edematosa e necrosi locale); le sue testuali parole suonano così: « in tutte le esperienze che io ho praticato io ho iniettato il siero di cavallo sotto la pelle per produrre anafilassi. Si può introdurlo anche nella cavità peritoneale, nello spessore dei muscoli, nelle vene; qualsiasi metodo si impieghi si realizza l'anafilassi. Il siero di cavallo, inoffensivo per il coniglio nuovo, determina nel

(¹) ARTHUS M., De l'anaphylaxie à l'immunité, Paris, Masson et C.^{ie} (1921).

coniglio precedentemente preparato con iniezioni di siero degli accidenti diversi, *locali o generali, primitivi o tardivi*: siero-anafilassi del coniglio ».

Più comunemente però s'intende per « fenomeno di Arthus » quella parte della ipersensibilità serica del coniglio che più strettamente riguarda il fenomeno cutaneo: *siero-anafilassi locale*.

Il *fenomeno di T. Smith* — shock anafilattico della cavia — consiste nell' iniettare per via intraperitoneale cm^3 0,20 di siero normale di cavallo a scopo sensibilizzante. Se dopo un periodo intervallare di 12-15-20 giorni reinoculiamo, meglio per via intracardiaca, cm^3 2 dello stesso siero (iniezione scatenante) l'animale muore rapidamente dentro pochi minuti con i sintomi dell'asfissia acuta.

I *fenomeni di Sanarelli-Shwartzman e di Robert Koch* invece riguardano non sensibilizzazione con siero normale di cavallo ma con corpi batterici o filtrati batterici.

Il *fenomeno di Sanarelli* consiste nel fatto che se in un coniglio si inietta per via endovenosa un lisato di germi in quantità ben tollerata, e dopo un intervallo di 24 ore si reinietta una piccola quantità dello stesso lisato o lisato di altri germi, pure in quantità di per sè innocua per l'animale, questo muore con una sintomatologia tumultuosa in cui predominano l'abbassamento marcato della temperatura, fenomeni asfittici e sintomi di intensa congestione ed emorragie nelle cavità sierose, nelle pareti intestinali e nei visceri addominali.

Il *fenomeno di Shwartzman* consiste nel fatto che se in un coniglio si inietta intracute una piccola quantità di filtrato di brodocultura batterica, l'animale non presenta che una fugace reazione infiammatoria locale; ma se dopo 24 ore si reinocula endovena lo stesso filtrato, con cui si era pretrattato l'animale, si manifesta, in corrispondenza dei punti in cui si era praticata la prima iniezione, una reazione emorragico-necrotica.

Studi ulteriori alla scoperta dei fatti riportati hanno dimostrato che il fenomeno di Sanarelli e quello di Shwartzman non sono che il duplice aspetto (*generale*- Sanarelli e *locale*- Shwartzman) di uno stesso fenomeno biologico: l'*Allergia emorragica*.

Il fenomeno di Sanarelli-Shwartzman rientra molto verosimilmente nei fenomeni di *allergia* in un senso lato, seppure si stenti a compren-

derlo nella *anafilassi* vera e propria, sensu strictiori. [Lucherini ⁽¹⁵⁾, Capuani ⁽²¹⁾].

Il *fenomeno di Roberto Koch* consiste nel fatto che se in una cavia, indenne da precedenti infezioni tubercolari, si introduce sottocute una certa quantità di bacilli di Koch, questi dal luogo di iniezione giungono alle linfoghiandole tributarie, dove trovano il primo ostacolo alla loro ulteriore diffusione dell'organismo. Ma se noi introduciamo bacilli di Koch in una cavia, che precedentemente abbia subito una infezione tubercolare (non mortale), vediamo già nel punto stesso dell'inoculazione un violento e rapido processo infiammatorio seguito da necrosi e da eliminazione di tutto il materiale patologico e da susseguente guarigione: *Allergia locale batterica*.

Che la ipertermia potesse modificare in qualche maniera l'insorgenza e l'andamento dei fenomeni allergici è concetto da lungo tempo conosciuto.

Innanzitutto l'osservazione clinica lo aveva già posto in luce con la constatazione che malattie febbrili, casualmente intercorrenti, potevano far retrocedere o sparire definitivamente stati morbosi di sicura o probabile genesi allergica: asma bronchiale, eczemi, malattie infettive acute e croniche nel cui ciclo, alla luce delle vedute moderne, possiamo vedere una componente allergica, ecc.

Ma un buon numero di osservazioni sperimentali, e che è superfluo citare tutte, appoggiano l'ipotesi del generico potere antiallergico dell'ipertermia. L'influenza transitoria della iperpiressia sulla cutireattività tubercolinica [Lucherini ⁽²⁾]; l'ipoergia cutanea transitoria dopo l'iniezione endovenosa di vaccino [Gernez e Marchandise ⁽³⁾]; l'attenuazione mediante piressia provocata della reazione cutanea alla vaccinazione antivaaiolosa [v. Bergmann ⁽⁴⁾]; la prevenzione dello schok anafilattico nel coniglio mediante ipertermia provocata e fin tanto che dura la modifica-

(15) LUCHERINI T., CECCHI E. e ALBERINI A., Azione antiallergica della iperpiressia provocata... sul fenomeno di Sanarelli SHWARTZMAN, Policlinico, Sez. Med., LIII (1946).

(21) CAPUANI G., Allergia e malattie allergiche, Ed. Minerva Medica, Torino, (1945).

(2) LUCHERINI T., Lotta contro la tubercolosi, 10, ottobre (1936).

(3) GERNEZ e MARCHANDISE, Revue d'Immunologie, 4 (1935).

(4) BERGMANN V. G., Patologia funzionale, Ist. Sierot. Milanese (1940).

zione termica [Pasteur Vallery-Radot e coll. ⁽⁵⁾]; l'inibizione dello shock anafilattico, in una percentuale di casi, nelle cavie sensibilizzate, mediante febbre provocata all'atto dell'iniezione scatenante [Errera ⁽⁶⁾]; analoghe ricerche di Jimenez-Diaz ⁽⁷⁾ e di altri AA. americani ⁽⁸⁻⁹⁾ sempre su cavie sensibilizzate; tutti questi dati sono, ad esempio, alcuni dei passati contributi sperimentali su questo argomento.

Pur non riguardando direttamente la piressia provocata come mezzo desensibilizzante, tuttavia cito *ad latere* i contributi sperimentali con salicilato di sodio di H. Swift ⁽¹⁰⁾ sui conigli e di A. Fischer ⁽¹¹⁾ sullo shock della cavia. I risultati di Caruselli e Teresi ⁽¹²⁾ e di G. Ortoleva ⁽¹³⁾ sulla inibizione del fenomeno di Sanarelli-Shwartzman: questi tentativi fatti a mezzo di colesterina ed acido linoleico. Analogamente si può dire per le esperienze di Pagano-Purpura ⁽²⁴⁾ eseguite sul fenomeno di Sanarelli-Shwartzman che si è potuto inibire in conigli ai quali preventivamente era stata iniettata endovena vitamina K. Citarda ⁽²⁵⁾ ha, dal canto suo, rilevato che il fenomeno di S.S. non si verifica o si verifica con intensità molto minore nei conigli tiroideotomizzati.

Così pure Merlini ⁽²⁶⁾ ha osservato la scarsa evidenza del fenomeno di S.S. dopo introduzione in circolo di *citrina*, mentre il fenomeno viene totalmente inibito se la *citrina* viene iniettata localmente. Dogliotti e Lenti hanno riferito del tutto recentemente, sull'azione protettiva della penicillina sulla shock anafilattico della cavia ^(26-bis).

⁽⁵⁾ PASTEUR VALLERY-RADOT, MAURIC G. e HUGO A., Soc. Biol., 7 (1931).

⁽⁶⁾ ERRERA G., Pathologica, 27 (1935).

⁽⁷⁾ JIMENEZ DIAZ C., Conferencias sobre algunos problemas de la Patologia interna, Editorial Cientifico Medica, Madrid (1944).

⁽⁸⁾ DE KRUIF P. e SIMPSON W., J. Lab. and Clin. Med. 26, 125 (1940).

⁽⁹⁾ GOTTSHALL R V., DE KRUIF P., COPE H. E. e LAURENT O., J. Lab. and Clin. Med., 29, 614 (1944).

⁽¹⁰⁾ SWIFT H., J.A.M.A., 24, 1668 (1920).

⁽¹¹⁾ FISCHER A., citato da Cecconi e Micheli, Medicina interna, IV vol., 2^a Ed. 58.

⁽¹²⁾ CARUSELLI e TERESI, La settimana medica, 8, 269 22 giugno (1943).

⁽¹³⁾ ORTOLEVA G., Acido linoleico e fenomeno di Sanarelli SHWARTZMAN, Riforma medica, 27, 28, 31 luglio (1946).

⁽²⁴⁾ PAGANO e PURPURA A., Vitaminologia, I.T.E.R., Torino (1941).

⁽²⁵⁾ CITARDA A., Boll. Ist. Sier. Mil., X (1942).

⁽²⁶⁾ MERLINI D., Vitaminologia, I.T.E.R., Torino (1941).

^(26-bis) DOGLIOTTI G. C. e LENTI G., Sull'azione protettiva della penicillina nello shock anafilattico della cavia, Accademia delle Scienze di Ferrara, 16 genn. (1947).

Ancora recentemente i lavori di Lucherini e coll. (¹⁴⁻¹⁵) sull'inibizione dei due fenomeni di T. Smith e di Sanarelli-Shwartzman a mezzo di ipertermia provocata hanno contribuito all'approfondirsi dell'argomento.

In nostre recentissime esperienze [Lucherini, Pala (¹⁶)] sulla mioendocardite allergica sperimentale nel coniglio e sui fenomeni di inibizione esercitati dalla piressia provocata, avevamo notato il particolare comportamento della *reagibilità cutanea* negli animali resi sensibili con siero di cavallo introdotto per via endovenosa.

Non interessandoci allora direttamente, nel piano del lavoro, questa particolarità, abbiamo preferito, con adeguate ricerche, ritornare su tale questione e studiarla più profondamente.

Se in un coniglio sensibilizzato per via endovenosa con siero normale di cavallo e con la tecnica che diremo, verso la 11^a-13^a giornata dalla sensibilizzazione, introduciamo per *via intracutanea* 0,10-0,20 dello stesso siero, vediamo che alla periferia del luogo dell'iniezione si può notare, già dopo mezz'ora o tre quarti d'ora, un arrossamento mentre una leggera tumefazione più pallida (edema) o roseo-pallida proemina nel luogo della puntura (ponfo). Dopo 12-24-36-48 ore tale fenomeno locale può essere scomparso ma in genere si accentua fino alla formazione di un vero e proprio nodulo consistente (con, alle volte, una zona necrotica superficiale) e di notevole durata nel tempo.

Tale procedimento, che ci indica come l'animale sia in fase di ipersensibilità, viene chiamato «Skin test» (Rich e Gregory); lo possiamo evidentemente omologare, dopo ciò che abbiamo più sopra detto (vedi nota a pag. 335), al *fenomeno di Arthus* preparato con sensibilizzazione per *via generale*.

Analogamente a quanto già era stato fatto per altri fenomeni di anafilassi sperimentale (fenomeno di Sanarelli-Shwartzman e di T. Smith), era interessante di vedere come lo stato di ipersensibilità *locale* (fenomeno di Arthus) nel coniglio si sarebbe comportato di fronte alla piressia provocata.

(¹⁶) LUCHERINI T. e PALA A., Mioendocardite allergica sperimentale (in corso di pubblicazione).

(¹⁴) LUCHERINI T., CECCHI E. e ALBERINI A., Influenza inibitrice della febbre artificiale sul fenomeno di T. Smith, Rend. Ist. Sup. San., IX, II (1946).

Non risultava infatti dalla letteratura che i *fenomeni anafilattici cutanei* (*) del coniglio fossero stati inibiti o modificati a seguito di crisi ipertermiche; solo è riferito che il fenomeno di Arthus (quello provocato con iniezioni sensibilizzanti multiple *locali*) può essere inibito nella sua comparsa iniettando endovena una piccola quantità dello stesso siero sensibilizzante, alla vigilia del giorno in cui dovrebbe essere praticata la quarta iniezione locale [Grineff (¹⁷)].

RICERCHE SPERIMENTALI

Sono stati scelti, per queste prove, conigli adulti del peso oscillante tra kg 1,500 e kg 1,700. Tutti hanno ricevuto, tanto il Gruppo I (controllo: tabella A) tanto il Gruppo II (conigli trattati: tabella B) un'unica larga

TABELLA A.

I GRUPPO.

Conigli	Giornate di esperienze		
	I Sensibilizzazione	XI - XIII Test cutaneo (fenomeno di Arthus) 0,10-0,20 di siero intradermico	XV - XVII Scatenamento: 5 cc di siero endovena
N. 1	10 cc. di siero normale di cavallo pro Kg. di peso endovena.	+ +	<i>Morte per shock</i> (dopo 30'' dalla fine dell'iniezione: abbattimento, polipnea intensa, rovesciamento sul fianco, movimento di fuga degli arti, decesso in 2').
N. 2	10 cc. di siero normale di cavallo pro Kg. di peso endovena.	+ + +	<i>Morte per shock</i> (sintomi: come il precedente).
N. 3	10 cc. di siero normale di cavallo pro Kg. di peso endovena.	+ + +	<i>Shock grave</i> (seguito da profondo abbattimento della durata di circa 10').
N. 4	10 cc. di siero normale di cavallo pro Kg. di peso endovena.	+ +	<i>Shock grave</i> (sintomi: come il precedente).
N. 5	10 cc. di siero normale di cavallo pro Kg. di peso endovena.	+ +	<i>Morte per shock</i> (lo shock mortale con i sintomi di cui al numero 1, interviene un po' più tardi, dopo circa 3' dalla fine dell'iniezione scatenante).

(*) I fenomeni anafilattici generali (schok) del coniglio erano stati oggetto di studio, in rapporto alla piressia provocata, da Pasteur Vallery-Radot e coll. (⁵).

(¹⁷) GRINEFF D., Compt. rend. Soc. de Biol., pag. 974, 15 giugno (1912).

TABELLA B.

II GRUPPO.

Conigli	G I O R N A				
	I Sensibilizzazione	II Febbre provo- cata ore 8 (*)	IV Febbre provo- cata ore 8	VI Febbre provo- cata ore 8	VIII Febbre provo- cata ore 8
N. 1	10 cc. siero normale di ca- vallo pro Kg. di peso endovena.	39,9-40,5 40,5-40,9 40,7-40,3	39,7-40,1 40,8-40,5 40,5-40,9	39,9-40 40,3-40,3 40,5-40,5	40 -40,2 40,1-40,5 40,8-40,8
N. 2	10 cc. siero normale di ca- vallo pro Kg. di peso endovena.	39,7-40,5 40,9-41 40,8-40,8	39,8-40,2 40,5-41 41 -40,9	39,7-39,7 39,9-40,5 40,5-40,9	39,8-39,8 40,5-40,5 40,5-40,5
N. 3	10 cc. siero normale di ca- vallo pro Kg. di peso endovena.	39,7-40,2 40 -40,7 40,5-40,7	39,8-40,5 40,5-40,8 40,7-40,8	40,1-39,9 40,5-40,7 40,7-40,2	39,0-40,2 40,1-40,1 40,2-40,2
N. 4	10 cc. siero normale di ca- vallo pro Kg. di peso endovena.	39,7-40,1 40,2-40,2 40,5-40,8	40,1-40,1 40,2-39,0 40,1-40,1	39,9-40,5 40,3-40,5 40,3-40,2	39,7-39,7 40,3-40,3 40,7-40,7
N. 5	10 cc. siero normale di ca- vallo pro Kg. di peso endovena.	39,9-40,2 40,5-40,7 41 -40,8	40 -40,5 40,9-40,9 40,7-40,6	39,9-40,1 40,1-40,5 40,7-40,7	39,8-40,2 45,5-41 40,9-40,9
N. 6	10 cc. siero normale di ca- vallo pro Kg. di peso endovena.	39,9-39,9 40 -39,9 40,1-39,8	39,7-40 39,9-39,9 39,9-39,8	39,9-40 39,9-40 40 -39,8	39,8-39,8 40,1-40,1 40 -40,2
N. 7 (**)	10 cc. siero normale di ca- vallo pro Kg. di peso endovena.	39,7-40 40 -40,5 40,5-40,3	40 -40 39,9-49,9 40,2-40	39,8-36,9 40,2-40,2 40,3-40,1	40 -40 40 -40 39,9-39,9
N. 8	10 cc. siero normale di ca- vallo pro Kg. di peso endovena.	39,9-40,2 40,5-40,5 39,9-40	39,7-39,8 40,1-40,1 40,5-40,1	39,9-40,5 42,2-40,2 40,2-40	
N. 9	10 cc. siero normale di ca- vallo pro Kg. di peso endovena.			40 -40,5 40,5-40,5 40,7-40,8	40 -40,2 40,8-40,8 40,9-40,9
N. 10	10 cc. siero normale di ca- vallo pro Kg. di peso endovena.			39,9-40,5 40,7-40,7 40,8-40,8	40,1-39,9 40,9-40,9 40,8-41,1
N. 11 (**)	10 cc. siero normale di ca- vallo pro Kg. di peso endovena.	39,7-40,8 40,8-40,9 41 -40,9	40,2-40,2 40 -40,7 40,7-40,8	40 -40,5 40,7-40,9 40,9-40,8	

(*) Le temperature iniziali (rettali) prima della provocazione della piressia hanno oscillato tra 39,5-40,2.
I conigli N. 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 10 sono stati resi iperpiretici con zolfo colloidale (sulfocollato).

(**) I conigli N. 7, 11, sono stati resi iperpiretici con proteine eterogene endovena (Piretina).

CONIGLI TRATTATI

DI ESPERIENZA

X Febbre provo- cata ore 8	XII - XIII Test cutaneo (fenomeno di Arthus): 0,10 — 0,20 di siero intradermico.	XV - XVII Scatenante 5 cc. di siero endovena
40 -40,5 40,5-40,9 40,9-40,8	Negativo dopo : $\frac{1}{2}$; 3 ; 12 ; 24 ; 48 ore.	Nessun disturbo grave visibile nè precoce nè tardivo eccetto polipnea modica per 1'-2'.
39,9-39,9 40,2-40,7 40,8-40,5	Negativo : idem come sopra.	Idem come sopra.
39,7-40,2 40,5-40,7 40,6-40,6	Positivo : + dopo 3 ore ; Negativo dopo : 12 ; 24 ; 48 ore.	Idem come sopra.
40,1-40,2 40,5-40,5 40,7-40,7	Positivo : +++ dopo 24 ; 48 ore.	Nessun disturbo obbiettivo nè immediato nè tardivo eccetto transitoria polipnea.
40 -40 40,5-40,8 40,5-40,9	Negativo : dopo $\frac{1}{2}$; 3 ; 12 ; 24 ; 48 ore.	Idem come sopra.
39,9-39,7 39,9-39,9 39,9 39,9	Negativo.	Idem come sopra.
39,9-40,5 40,5-40,6 40,5-40,5	Positivo : + dopo 12 ore ; Negativo : dopo 24 e 48 ore.	Idem come sopra.
	Negativo.	Lieve abbattimento e polipnea.
40,1-40,7 40,7-41 40,9-40,6	Negativo.	Nessun disturbo nè immediato nè tardivo.
39,9-40,5 40,9-40,8 41 -40,9	Negativo.	Idem come sopra.
	Negativo.	Idem come sopra.

ciascun coniglio tra 39,2 — 39,5.

dovena. Le temperature erano controllate di mezz'ora in mezz'ora, per tre ore circa.

dose endovena (10 cm³ pro kg di peso) di siero normale di cavallo a scopo sensibilizzante (²⁷⁻²⁹); iniezione lentissima.

All'undicesimo o dodicesimo o tredicesimo giorno da questa iniezione sensibilizzante, agli animali (tanto del Gruppo I che del Gruppo II) veniva praticata una iniezione intracutanea di 0,10-0,20 cm³ dello stesso siero usato per la sensibilizzazione.

La tecnica usata per tale *test cutaneo* si è valsa di un ago a punta smussa, molto sottile; la zona cutanea scelta era quella dell'addome o del dorso; sterilità dell'ago e della siringa ed antisepsi della cute all'alcool.

Abbiamo osservato l'andamento della reazione cutanea dopo mezz'ora dall'iniezione, dopo 2 ore, dopo 24, 36, 48 ore.

Abbiamo espresso l'intensità della reazione come segue:

eritema e lieve edema della zona inoculata e circumvicina: +

eritema, edema netto, ponfo o nodulo: ++

edema duro con necrosi di una zona cutanea: +++

Le risposte segnate di fianco a ciascun coniglio si intendono quelle corrispondenti al massimo della reazione, senza tener conto delle altre fasi; se cioè, per esempio, un coniglio mostrava una reazione con: + dopo mezz'ora e dopo due ore, e con: + + + dopo 24-28 ore, la risposta che noi abbiamo segnato è quella massima con: + + +.

Tutti i conigli in esperimento, tanto quelli del Gruppo I (controllo: tabella A) quanto quelli del Gruppo II (Conigli trattati: tabella B) ricevettero, tra il 15° ed il 17° giorno dalla iniezione sensibilizzante, una iniezione scatenante di siero normale di cavallo via endovena nella dose di 5 cm³, invece di 1 o 2 cm³ perchè, da nostre precedenti esperienze sull'endocardite sperimentale allergica (in corso di pubblicazione) ci siamo convinti che con piccolissime dosi di antigene, reiniettato endovena a scopo scatenante, lo shock generale nel coniglio vi può essere (cl clinicamente accertabile) ma anche mancare apparentemente. Mortale sicuramente o clinicamente grave, almeno nei nostri casi, con 5 cm³ di siero reiniettati endovena.

(²⁷) BOLD W. C., Fundamentals of Immunology, Staples publication (1946).

(²⁹) RICH A. R. e Gregory J. E., Bull. Johns Hopkins Hosp, 72, 65 (1943); 73, 239 (1943); 75, 115 (1944); 78, 1 (1946).

La risposta dell'animale a tale dose scatenante è dettagliatamente specificata a fianco di ciascun coniglio nelle tabelle riassuntive A-B.

Inoltre in tutti i conigli del II Gruppo (conigli trattati: tabella B) fu provocata, tra l'iniezione preparante e la provocazione del test cutaneo di sensibilità, una iperpiressia mediante iniezione endovenosa, a giorni alterni, di un preparato del commercio di zolfo colloidale (Sulfoidol). Due fiale per via endovenosa ci hanno dato, già dopo mezz'ora e per circa due ore e mezzo-tre ore, cuspidi febbrili notevoli, che noi abbiamo registrato ogni mezz'ora.

Alcuni dei conigli di prova (II Gruppo: tabella B) hanno ricevuto 5 attacchi febbrili tra l'iniezione sensibilizzante ed test cutaneo; altri hanno ricevuto 3 soli attacchi febbrili nei primi 6 giorni dopo la iniezione sensibilizzante (per es. II-IV-VI giorno dalla sensibilizzazione); oppure tre attacchi febbrili nei 6 giorni subito precedenti la provocazione del test cutaneo (per es. VI-VIII-X giorno dalla sensibilizzazione: febbre. Nel XII-XIII giorno si eseguiva il test cutaneo).

CONSIDERAZIONI

Una semplice lettura dei dati raccolti nelle tabelle A e B ci permette di avere una visione panoramica che si può così riassumere:

1) α) Tutti i conigli del I Gruppo, tab. A (controllo) hanno manifestato di essere largamente ipersensibili al siero normale di cavallo, previamente iniettato, almeno dalla XI giornata dalla sensibilizzazione; ne fanno fede la positività marcata del test cutaneo (fenomeno di Arthus) che, nei conigli 2-3, si è spinta fino alla necrosi superficiale; β) lo shock anafilattico è stato mortale o grave (conigli 3-4) in tutti gli animali sensibilizzati, al momento della reinoculazione endovena (XV-XVII giorno dalla sensibilizzazione) di 5 cm³ dello stesso siero normale di cavallo con cui erano stati sensibilizzati.

2) Nei conigli del II Gruppo (conigli trattati: tabella B) dobbiamo considerare 3 sottogruppi:

a) i conigli n. 1-2-3-4-5-6-7 hanno avuto 5 attacchi febbrili (*)

(*) Stimolati dalle parole di M. Arthus ⁽¹⁾ che « ... la siero-anafilassi del coniglio è uno stato stabile, difficilmente correggibile » abbiamo voluto, inizialmente, moltiplicare gli attacchi febbrili per meglio studiarne gli effetti.

a giorni alterni; nei 7 animali il test cutaneo, praticato tra la 12^a e 13^a giornata, è *riuscito negativo* tanto alla osservazione immediata (dopo 1/2-1 ora) che tardiva (dopo 12-24-36-48 ore), eccetto che per i conigli n. 3-4-7. In tale sottogruppo di conigli l'iniezione scatenante di siero di cavallo di 5 cm³ per via endovena *non ha prodotto alcun disturbo visibile grave* negli animali che si sono mostrati vispi e per nulla abbattuti, fatta eccezione per una discreta ma passeggera polipnea.

b) I conigli n. 8-9-10-11 hanno avuto tre attacchi febbrili, sempre a giorni alterni; e precisamente i n. 8-11 nei primi 6-8 giorni seguenti alla sensibilizzazione, ed i n. 9-10 nei 6-8 giorni precedenti la prova del test cutaneo; nei 4 animali il test cutaneo è stato ugualmente negativo sia alla osservazione precoce che tardiva.

La iniezione scatenante endovena di 5 cm³ fatte tra la XIV e la XVII giornata dalla sensibilizzazione non ha prodotto shock mortale ma solo polipnea transitoria. In un coniglio (n. 8) vi è stato momentaneo abbattimento e notevole polipnea, ma l'animale si è ripreso dopo pochi minuti e non ha manifestato disturbi in seguito.

Si dovrebbe dedurre che anche tre soli attacchi febbrili impediscono o limitano largamente sia la manifestazione di ipersensibilità serica locale (fenomeno di Arthus) sia la generale (shock anafilattico).

c) Il terzo sottogruppo comprende due conigli (n. 7-11) in cui la piressia non è stata provocata con un metalloide allo stato colloidale quale lo zolfo (come nei conigli n. 1-2-3-4-5-6-8-9 e 10 degli altri sottogruppi), bensì con una sostanza proteica semplice quale la Piretamina. E ciò per renderci conto se l'effetto inibente sui fenomeni di ipersensibilità serica del coniglio si potesse attribuire a gran maggioranza alla piressia in sè, indipendentemente dalla sostanza adoperata come iperpiretico (se l'inibizione si fosse ottenuta sia con lo zolfo che con la Piretamina), oppure alla proprietà specifica propria di alcuni speciali composti (preparati antiallergici) e ciò se si fosse ottenuta, per esempio, l'inibizione solo con lo zolfo e non con la Piretamina.

Si può concludere da questi dati:

1) tutti i conigli che hanno avuto una sensibilizzazione e dopo 15-17 giorni una iniezione scatenante endovena, senza essere stati trattati nell'intervallo con piressia provocata (tabella A), hanno mostrato di

essere nettamente cuti-sensibili al test cutaneo tra la XI e la XIII giornata di esperienza (100% dei casi). Il test cutaneo (fenomeno di Arthus) è andato dal ponfo ben visibile, con notevole edema circostante, al nodulo ed alla necrosi (in due casi). Alla reinoculazione endovena dell'antigene (5 cm³), tra la 15^a e la 17^a giornata, è seguito shock mortale o grave.

2) Tutti i conigli invece trattati con attacchi iperpiretici tra iniezione sensibilizzante e scatenante (tabella B), eccetto i numeri 3-4 e 7, sono rimasti *cuti-negativi al test cutaneo* praticato per via intradermica tra la 12^a e la 13^a giornata di esperienza; per i conigli 3-4-7 dobbiamo fare alcuni rilievi:

a) i conigli n. 3-7, tabella B) hanno avuto una piccola reazione cutanea dopo 3 oppure 12 ore dal test (arrossamento circoscritto e modico edema), ma tale reazione non si è nè accentuata nè prolungata nel tempo, tantochè la cute era diventata di nuovo normale dopo 12-24-36-48 ore. Netta differenza quindi tra questa modica positività e la decisa e prolungata positività negli animali non trattati con febbre (vedi tabella A).

b) Maggiore attenzione invece si deve portare al coniglio n. 4 (tabella B); tale animale, che ha avuto 5 attacchi febbrili con cuspidi elevate, ha presentato, cionostante, un comportamento antitetico di fronte al test cutaneo ed alla reiniezione endovena dell'antigene. Mentre reinoculando in 16^a giornata dalla sensibilizzazione l'antigene direttamente nel sangue ed anche con una discreta velocità (nella dose che negli altri conigli di controllo - tabella A - riusciva mortale o fortemente shockante) non si ebbe apprezzabile sofferenza visibile nell'animale, eccetto transitoria polipnea, invece il test cutaneo praticato con 0,10 di siero intradermico in 13^a giornata riuscì francamente positivo con: + + + dopo 24-48 ore. Nè si può pensare che si sia trattato di una flogosi banale (streptostafilococcica) accidentalmente provocata, data la tecnica adoperata in questo coniglio come negli altri: disinfezione preliminare della cute, ago e siero sterili.

Dobbiamo riconoscere che in *questo caso* i dati obbiettivi sperimentali non sono facilmente spiegabili. Si potrebbe ammettere, *in via puramente ipotetica*, che un abbondante produzione di anticorpi si sia prodotta dopo la sensibilizzazione e che gli anticorpi si siano fissati precocemente e tenacemente nei tessuti del mantello cutaneo, ove la piressia provocata non sarebbe riuscita a neutralizzare l'effetto istaminico risultante

dalla loro ricongiunzione all'antigene, con conseguente manifestazione di fenomeni di anafilassi locale (fenomeno di Arthus).

Al contrario la diminuzione della quantità di anticorpi, operata progressivamente dai reiterati attacchi febbrili nei rimanenti tessuti dell'animale, diminuendo parallelamente la quantità di sostanza anafilattogena, (istamina) pronta a liberarsi al momento della sinapsi degli stessi anticorpi con l'antigene reinoculato, avrebbe impedito lo shock generale come conseguenza della scarsa immissione nel torrente circolatorio delle stesse sostanze istamino-simili cui, come è oramai ammesso, si addebita il quadro di shock anafilattico generalizzato. Si sa inoltre che la febbre abbassa di per sé il tasso istaminemico. I fenomeni locali di ipersensibilità e quelli generali non debbono quindi necessariamente procedere sempre paralleli.

Giova pure sottolineare, a tal proposito, che Moore E. J. e coll. ⁽¹⁸⁾, in recentissime ricerche (1947) sull'endocardite allergica nei topi ottenuta con una o varie sensibilizzazioni ed altrettanti scatenamenti a mezzo di albume d'uovo, hanno notato, oltre ai reperti istologici di flogosi allergica in vari distretti del mesenchima tra cui il cuore, che vi può essere spesso un comportamento quasi paradossale tra i fenomeni clinici dell'ipersensibilità (shock generalizzato) e i fenomeni istologici dell'ipersensibilità stessa. Alcuni animali possono mostrare da un lato netti segni istologici di flogosi allergica mentre dall'altro nessun segno visibile di shock anafilattico si può mostrare in vita al momento della reinoculazione dell'antigene, o vice-versa ⁽²⁸⁾.

3) Tutti i conigli che hanno avuto iperpiressia (sia tre che cinque attacchi; sia a mezzo di zolfo che a mezzo di Piretamina) non hanno mostrato nessun disturbo apparente, eccetto la polipnea, (del resto non grave) alla reiniezione scatenante di 5 cm³ di siero normale di cavallo endovena alla 15^a-17^a giornata dalla sensibilizzazione; mentre i conigli di controllo (vedi tabella A) trattati con la stessa tecnica, muoiono o presentano shock serico grave da cui si ripigliano con lentezza. Solo un coniglio trattato (tabella B, n. 8) ha mostrato un fugace abbattimento.

⁽¹⁸⁾ MOORE E. J., RIDGE G. K., HUNTINGTON R., HALL E. M., GRIFFITH C. e KNOWLES R. C., Production of acute Rheumatic type Heart Lesions in mice, Proc. of the Soc. for Exper. Biol. and Medicine, LXV, 1 (1947).

⁽²⁸⁾ KLINE B. S., Tissue Changes in Allergy, J. Allergy, Jan. 1948, 1 vol. 19.

4) Non solo cinque ma anche solo tre attacchi febbrili sono bastati ad inibire i fenomeni di ipersensibilità serica; e nessuna influenza parrebbe, almeno da queste ricerche, doversi attribuire all'aver provocato febbre durante la prima fase della sensibilizzazione (nei primi 6-10 giorni) o durante la seconda fase (dalla 6^a giornata in poi): i fenomeni di ipersensibilità sono stati inibiti ugualmente; altri AA. (Lucherini e coll., Ortoleva, ecc.) avrebbero invece rilevato delle differenze di comportamento. Da tener presente però che tali AA. hanno lavorato in campi sperimentali non uguali al mio [Lucherini e Cecchi sui fenomeni di Sanarelli-Shwartzman ⁽¹⁵⁾ e di T. Smith ⁽¹⁴⁾] od hanno adoperati, a scopo inibente la ipersensibilità, mezzi non ipertiretici, come l'acido linoleico [Ortoleva ⁽¹³⁾].

5) Due conigli (7-11, tabella B) hanno avuto attacchi febbrili a mezzo non di zolfo colloidale, ma di altra sostanza (Piretamina) nell'intento di vedere se fosse stata la febbre di per sè oppure il tipo di sostanza a poter inibire i fenomeni di ipersensibilità. Data la scarsità delle prove sperimentali (due soli conigli) non si possono fare affermazioni sicure; sembra però che basti la sola iperpiressia (indipendentemente dalla qualità della sostanza iniettata) ad ostacolare le risposte di ipersensibilità. Anche in questi due casi sia tre che cinque attacchi di febbre hanno dato lo stesso risultato di inibizione o di netta limitazione sul *fenomeno di allergia cutanea*, come risulta dalla tabella B.

Dovendo, infine, chiederci con quale meccanismo la piressia provocata limiti od impedisca, in una certa percentuale di casi, i fenomeni di ipersensibilità in senso lato, noi dobbiamo riconoscere che la risposta è ardua e che, se l'osservazione dei fatti è agevole, una spiegazione definitiva non è per ora possibile dare.

Le teorie sull'azione inibente della febbre nei riguardi dei fenomeni allergici sono molteplici e per averne dettagli rimandiamo, onde evitare inutili ripetizioni, a ciò che recentemente altri AA. [Lucherini e collaboratori ⁽¹⁴⁻¹⁵⁻²²⁻²³⁾] hanno scritto sull'argomento.

⁽²²⁾ LUCHERINI T., CECCHI E. e ALBERINI A., Influenza inibitrice della febbre artificiale sull'insorgenza del quadro istopatologico di reazioni articolari allergiche, Rend. Istit. Sup. Sanità, IX, I (1946).

⁽²³⁾ LUCHERINI T., Clinica e terapia delle Artropatie acute e criniche, Universitas, Roma (1946).

In via generale si potrebbe ricordare che la funzione del sistema reticolo-endotelio, che larga importanza pare abbia direttamente od indirettamente vuoi nella genesi degli anticorpi vuoi sui processi ossidativi durante lo stato ipertermico, sia ostacolata o comunque turbata dalla piresia nella sua proprietà anticorpi-formatrice (¹⁴⁻¹⁹), con evidente influenza sui fenomeni di ipersensibilità a questa proprietà conseguenti.

Si potrebbe infine pensare che l'ipertermia ostacoli anche l'effetto dell'antigene, sia inibendo il suo potere sensibilizzante, sia diminuendo od annullando il suo assorbimento nell'organismo e quindi la sua azione [Swift (¹⁰); Cecchi (²⁰)].

Roma. — Istituto Superiore di Sanità e Istituto di Semeiotica medica dell'Università. Dicembre 1947.

(¹⁹) DERRICK C. L., HITCHCOCK C. H. e SWIFT H. F., J. Clin. Invest, 5, 427 (1928).

(²⁰) CECCHI E., Ricerche sperimentali sul potere antiallergico dell'antipirina e del salicilato di sodio, Rendiconti Is. Sup. di Sanità, IX, I (1946).
