

21. Antonio PALA. — Inibizione di lesioni mio-endocardiche da ipersensibilità serica nel coniglio a mezzo del salicilato di sodio.

Riassunto. — il salicilato di sodio, somministrato in quantità progressiva per via endovenosa a conigli sottoposti ad uno o più cicli ricorrenti di sensibilizzazione e scatenamento a mezzo di siero normale di cavallo («periodi di shock») ha mostrato di esercitare «azione anti-allergica», inibendo la comparsa di quelle lesioni di ipersensibilità che sogliono riscontrarsi a carico del cuore degli animali sensibilizzati a mezzo di siero eterologo.

Tale azione antiallergica è stata più spiccata e decisa negli animali sottoposti ad un numero minore di shock anafilattici.

Résumé. — Le salicylate de soude, administré en quantité croissante par voie intraveineuse à des lapins soumis à un ou plusieurs cycles récurrents de sensibilisation et déclenchement au moyen de sérum normal de cheval («périodes de choc»), a montré qu'il exerce une «action antiallergique» en inhibant l'apparition des lésions d'hypersensibilité qu'on rencontre généralement dans le coeur des animaux sensibilisés au moyen d'un sérum hétérologue.

Cette action antiallergique a été plus marquée et décidée dans les animaux soumis à un nombre plus petit de chocs anaphylactiques

Summary. — Sodium salicylate, administered intravenously in progressive quantities to rabbits subjected to one or more recurrent cycles of sensitization and allergic reaction by means of normal horse serum («shock cycles»), has proved to exert an «antiallergic action» by inhibiting the appearance of those lesions of hypersensitiveness which are usually encountered in the heart of animals sensitized with a heterologous serum.

This antiallergic action has been more pronounced and decided in animals subjected to a smaller number of anaphylactic shocks.

Zusammenfassung. — Wenn salicylsaures Natrium in wachsender Menge auf intravenösem Wege in Kaninchen injiziert wurde, die einem oder mehreren periodischen Zyklen von Sensibilisierung und Reaktionserscheinung («Schockperioden») mittels normalen Pferdeser-

rumms unterzogen werden, so hat man eine « anti-allergische Wirkung » dieses Salzes festgestellt, indem das Erscheinen jener durch Ueberempfindlichkeit bedingten Verletzungen des Herzens, die oft bei mit heterologem Serum sensibilisierten Tieren entstehen, verhindert wird.

Eine solche anti-allergische Wirkung lässt sich deutlicher und in höherem Grade beobachten wenn die Tiere einer geringeren Anzahl von anaphylaktischen Schocks unterzogen werden.

Numerosi lavori hanno mostrato, in epoca relativamente recente, gli stretti rapporti che intercorrono tra i fenomeni di ipersensibilità e la « malattia reumatica » (m. r.) intesa quest'ultima nel senso più estensivo della parola; le lesioni articolari, la compromissione cardiaca, delle sierose, del sistema nervoso ecc. sono riportabili, secondo queste vedute, ad un meccanismo di reazione iperergica del mesenchima di fronte a stimoli vari come proteine batteriche e proteine semplici, virus, stimoli esogeni ed endogeni. [Klinge ⁽¹⁾, Chini ⁽²⁾, Magrassi ⁽³⁾, Comroe ⁽⁴⁾, Urbach e Gottlieb ⁽⁵⁾, Bieling ⁽⁶⁾, Berger ⁽⁷⁾, Lucherini ⁽⁸⁾, Cavelti ⁽⁹⁾, Redaelli ⁽¹⁰⁾, etc...].

Così considerato il problema della malattia reumatica, si sono potuti allargare i suoi confini dal primitivo concetto di malattia del mesenchima,

(¹) F. KLINGE in W. Berger e R. Hansen, Allergie, Thieme, Leipzig (1940); « Der Rheumatismus », Springer, Berlin (1933); *Ergebn. allg. Path. u. path. Anat.*, 27, 1 (1933).

(²) V. CHINI, *Boll. I. S. Milanese*, 14, 657 (1933).

(³) F. MAGRASSI, *Acta Rheumatologica*, 5, 2 (1933).

(⁴) B. J. COMROE, *Arthritis and allied Conditions*, Philadelphia, Lea (1947).

(⁵) E. URBACH e P. M. GOTTLIEB, *Allergie*, London, Heinemann (1946).

(⁶) R. BIELING, *Ann. Tomark. Fond.*, 2, 26 (1937); *Rheumaproblem*, Bd. 2, 20, Thieme, Lipsia (1931).

(⁷) W. BERGER, cit. da G. F. Capuani, *Allergia e malattie allergiche*, ed « Minerva Medica », Torino (1945).

(⁸) T. LUCHERINI, *Clinica e Terapia delle Artropatie acute e croniche*, ed. Universitatis, Roma (1946).

(⁹) F. A. CAVELTI, *Schweiz. Med. Wchnsch.*, 4, 83 (1948).

(¹⁰) P. REDAELLI, *Problemi dell'allergia visti da un morfologo*, « *Rassegna Clinico-Scientifica* », 7, 26 (1947).

causata direttamente sia da un virus specifico [Aschoff ⁽¹¹⁾, Graeff ⁽¹²⁾], sia da un particolare streptococco o dalle sue tossine, [Robinson ⁽¹³⁾] fino a considerarla una malattia catalogabile nel vasto capitolo delle « malattie insorgenti con un meccanismo allergico » lasciando d'altra parte impregiudicata la vera entità della causa sensibilizzante, riportabile ad uno qualsiasi dei momenti or ora accennati [Swift ⁽¹⁴⁾].

D'altra parte tutta un'altra serie di lavori e di osservazioni cliniche ha mostrato come vi siano numerosi mezzi che tendono ad inibire, con varia fortuna e successo, l'insorgenza e l'evolversi dei fenomeni allergici, siano essi *mezzi fisici* come la ipertemia spontanea o provocata, siano essi *mezzi chimici* di cui alcuni già da tempo noti mentre altri, ottenuti sinteticamente, sono di conoscenza recente specie ad opera degli AA. di lingua anglosassone (preparati antiistaminici come, per esempio, i derivati della etilbenzilalanilina).

Stando al concetto di considerare la « malattia reumatica » come espressione di uno stato di ipersensibilità dei tessuti connettivi a stimoli vari che abbiano avuto potere antigene, poteva sembrare giustificato vedere se qualcuno dei mezzi fisici o chimici di cui si è fatto cenno avesse potuto, nel quadro della m. r. stessa, chiaramente incidere o meno sull'insorgere ed evolversi di fenomeni allergici, che, dal lato istologico, sono oramai ampiamente conosciuti con il susseguirsi delle tre tappe: 1) congestione vasale, edema del collagene e necrosi fibrinoide [« fase funzionale » e « fenomeni regressivi-degenerativi » secondo Kline ⁽¹⁵⁾]; 2) infiltrazioni di polinucleari (eosinofili), di elementi monocellulari e di istiociti fino a giungere, in alcuni casi, a formazioni nodulari ravvicinabili ai « corpi di Aschoff »; 3) fase di sclerosi.

Una serie di lavori sperimentali avevano già dimostrato come fosse possibile provocare, in una buona percentuale di casi, una lesione a carico del miocardio e dei veli valvolari del tutto simile a quella della ma-

(¹¹) L. ASCHOFF, Muench. Med. Wchnsch., 2, 1597, (1935).

(¹²) S. GRAEFF, Rheumaproblem, Bd. 2, 79, Thieme, Lipsia (1931).

(¹³) J. J. ROBINSON, Notes on some Experimental Streptococcus Injury in the Rabbit and Guinea Pig. Arch. Pediatr., 61, 564 (1944).

(¹⁴) H. F. SWIFT, J. A. M. A., 92, 2071 (1929).

(¹⁵) B. S. KLINE, Tissue Changes in Allergy. Journ. of Allergy, 19, n. 1, pag. 19, Jan. (1948).

lattia reumatica umana a mezzo di iniezioni sensibilizzanti uniche o multiple di proteine batteriche; ma del tutto recentemente quadri isto-patologici di lesioni uguali o molto simili alle lesioni cardiache reumatiche dell'uomo si sono potuti ottenere con l'introduzione parenterali di proteine normali eterologhe, quali il siero di cavallo, di bue, l'albumine d'uovo, albumina serica cristallizzata di bue, globulina serica. [Rich e Gregory (¹⁶), Moore (¹⁷) e coll.; Hawn e Janeway (¹⁸); Cavelti (⁹)].

In un precedente nostro lavoro [(Lucherini e Pala (¹⁹))], ci siamo occupati della provocazione nei conigli di una endo-miocardite ottenuta con meccanismo allergico a mezzo di fasi uniche o multiple, opportunamente ricorrenti, di sensibilizzazione e di scatenamento adoperando siero normale di cavallo; e contemporaneamente ci siamo occupati di sperimentare l'eventuale inibizione che, sulla comparsa di tale quadro sperimentale, poteva avere un mezzo fisico ben noto, il quale, in clinica aveva già dato risultati buoni o soddisfacenti in quadri patologici classificabili di natura «allergica»: l'ipertermia provocata.

Le constatazioni a cui eravamo giunti ci permettevano di concludere che l'ipertermia provocata inibisce o limita l'insorgere e l'evolversi di quadri isto-patologici di ipersensibilità nel cuore, salvo nel caso in cui gli stimoli sensibilizzanti e le fasi di shock anafilattico non fossero ripetuti reiteratamente nel tempo; in tal caso infatti l'esame istologico ci mostrava che le lesioni a carico del cuore insorgevano presso a poco con la stessa intensità che nei controlli non trattati con febbre artificiale (Lucherini e Pala).

Ed ancora in un'altra nota [Pala (²⁰)] avevo potuto constatare il

(¹⁶) J. E. RICH e A. R. GREGORY, Bull. of J. Hopkins Hospital, 2, 65, febb. (1943); idem., 4, 239, ottobre (1943); idem., 75, 115 (1944).

(¹⁷) E. G. MOORE e coll., Production of acute Rheumatic type Heart lesions in mice. Proc. of the Soc. for Exper. Biol. and Medicine, 65, 1 (1947).

(¹⁸) C. V. Z. HAWN e C. A. JANEWAY, Histological and Serological Sequences in Experimental Hypersensitivity, Journal Exper. Med., 85, 571 (1948).

(¹⁹) T. LUCHERINI e A. PALA, Mio-endocardite allergica sperimentale. Influenza inibitrice della piressia provocata sull'insorgenza del quadro isto-patologico di reazioni carditiche iperergiche, Rendiconti Ist. Sup. Sanità, 12 (1948).

(²⁰) A. PALA, Potere antiallergico della piressia provocata sui fenomeni di ipersensibilità serica nel coniglio: ipersensibilità generalizzata (shock anafilattico) ed ipersensibilità locale (fenomeno di Arthus), Rendiconti Ist. Sup. Sanità, 12 (1948).

potere inibente che la piressia provocata può esercitare sul fenomeno di Arthus nel coniglio.

Ma, come abbiamo accennato, anche i *mezzi chimici* hanno mostrato « potere antiallergico » in vari quadri morbosi di tale natura e ci ripromettevamo quindi di esaminare l'eventuale azione antiallergica, sulla insorgenza di lesioni mio-endocardiche con meccanismo di ipersensibilità, di quel notissimo mezzo chimico che è il salicilato di sodio, la cui azione benefica sul quadro clinico dell'affezione reumatica umana è ormai da lungo tempo conosciuto, parallelamente a quello dei preparati pirazolici (piramidone, antipirina).

Che il salicilato di sodio avesse un vero e proprio potere antiallergico e desinsibilizzante è affermato da una serie di ricercatori [Ceconi ⁽²¹⁾] con esperienza portate ad inibire ora i fenomeni di shock anafilattico della cavia [A. Fischer ⁽²²⁾, Cecchi ⁽²³⁾], ora ad inibire o limitare la formazione di anticorpi, agglutinine ed emolisine in conigli sottoposti ad azione di un antigene e contemporaneamente a somministrazione di salicilato di sodio [H. Swift ⁽²⁴⁾], supponendo, come base del fenomeno, un'azione inibente diretta del salicilato sull'antigene. Derick ⁽²⁵⁾ e coll. pensano che l'utilità del salicilato nella malattia da siero sia invece dovuta all'ostacolo nella produzione degli anticorpi; altri contributi hanno dimostrato che il salicilato inibirebbe la precipitazione in un sistema ovo-albumina -antiovoalbumina [Coburn ⁽²⁶⁾ e coll.], o in un sistema streptolisina-antistreptolisina [Salazare Del Refugio ⁽²⁷⁾].

E' negato per contro potere antiallergico ai pirazolici da Schnabel ⁽²⁸⁾, che vide conigli sensibilizzati presentare shock anafilattico generalizzato pure essendo stati trattati con il piramidone.

(²¹) A. CECONI, « Medicina interna », 2^a ed., 4, (1940).

(²²) A. FISCHER, cit. da Ceconi.

(²³) E. CECCHI, Ricerche sperimentali sul potere antiallergico dell'antipirina e del salicilato di sodio. Estratto Rendiconti Ist. Superiore di Sanità, 10, 546 (1947).

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

(²⁵) C. L. DERICK e coll., Clin. Invest., 5, 427 (1928).

(²⁶) A. F. COBURN, The factor of infection in Rheumatic State, Baltimora, William and Wilkins (1931).

(²⁷) M. SALAZAR e B. DEL REFUGIO, Arch. d. Inst. d. Cardiologia de Mexico, 5, XVI, 432 (1946).

(²⁸) SCHNABEL, Zentral. f. inn. Med., 945 (1934).

TABELLA A.

QUADRO SINOTTICO DELLE RICERCHE

Conigli	G i o r n a t e		
	I	XVII	XIX
B ₁	<i>I^a sensibilizzazione.</i> Cm ³ 10 di siero normale di cavallo pro kg di peso. Endovena.	<i>I^o scatenamento.</i> Cm ³ 1 di siero. Endovena. Polipnea.	
B ₂	<i>I^a sensibilizzazione.</i> Cm ³ 10 di siero normale di cavallo pro kg di peso. Endovena.	<i>I^o scatenamento.</i> Cm ³ 1 di siero. Endovena. Nessun disturbo apparente.	
B ₃	<i>I^a sensibilizzazione.</i> Cm ³ 10 di siero normale di cavallo pro kg di peso. Endovena.	<i>I^o scatenamento.</i> Cm ³ 1 di siero. Endovena. Modica polipnea.	<i>II^a sensibilizzazione.</i> Cm ³ 1 di siero endovena. Dopo 15' 10 cm ³ di siero endovena pro kg di peso.
B ₄	<i>I^a sensibilizzazione.</i> Cm ³ 10 di siero normale di cavallo pro kg di peso. Endovena.	<i>I^o scatenamento.</i> Cm ³ 1 di siero. Endovena. Nessun disturbo apparente.	<i>II^a sensibilizzazione.</i> Cm ³ 1 di siero endovena. Dopo 15' 10 cm ³ di siero endovena pro kg di peso.
B ₅	<i>I^a sensibilizzazione.</i> Cm ³ 10 di siero normale di cavallo pro kg di peso. Endovena.	<i>I^o scatenamento.</i> Cm ³ 1 di siero. Endovena. Nessun disturbo apparente.	<i>II^a sensibilizzazione.</i> Cm ³ 1 di siero endovena. Dopo 15' 10 cm ³ di siero endovena pro kg di peso.
B ₆	<i>I^a sensibilizzazione.</i> Cm ³ 10 di siero normale di cavallo pro kg di peso. Endovena.	<i>I^o scatenamento.</i> Cm ³ 1 di siero. Endovena. Nessun disturbo apparente.	<i>II^a sensibilizzazione.</i> Cm ³ 1 di siero endovena. Dopo 15' 10 cm ³ di siero endovena pro kg di peso.

SPERIMENTALI (*Animali controllo*)

esperienza			NOTE
XXXV	XXXVII	LIII	
			Ucciso alla 18 ^a giornata.
			Ucciso alla 18 ^a giornata.
II° scatenamento. Cm ³ 1 di siero. Endo- vena. Polipnea.			Ucciso alla 36 ^a giornata.
II° scatenamento. Cm ³ 1 di siero. Endo- vena. Nessun distur- bo apparente.			Ucciso alla 36 ^a giornata.
II° scatenamento. Cm ³ 1 di siero. Endo- vena. Nessun distur- bo apparente.	III ^a sensibilizzazione. Cm ³ 1 di siero endo- vena. Dopo 15' cm ³ 10 di siero endove- na pro kg di peso	III° scatenamento. Cm ³ 1 di siero. Endo- vena. Nessun distur- bo apparente.	Ucciso alla 54 ^a giornata.
II° scatenamento. Cm ³ 1 di siero. Endo- vena. Polipnea.	III ^a sensibilizzazione. Cm ³ 1 di siero endo- vena. Dopo 15' cm ³ 10 di siero endove- na pro kg di peso.	III° scatenamento. Cm ³ 1 di siero. Endo- vena. Polipnea.	Ucciso alla 54 ^a giornata.

Non ci risultava, dall'esame della letteratura che fossero stati eseguiti tentativi di adoperare i salicilici come mezzo inibente l'insorgere del quadro isto-patologico sperimentale della mio-endocardite allergica nel coniglio.

PARTE SPERIMENTALE

Sei conigli del peso di circa Kg. 1,500 sono stati adoperati come controlli (Tabella A.). Analogamente a quanto lavori precedenti di altri AA. e nostri avevano mostrato, è stato possibile procurare l'insorgenza nel cuore degli animali di quadri isto-patologici di varia intensità, riportabili ad un meccanismo allergico, sensibilizzando gli animali con un'unica larga dose di siero normale di cavallo (10 cm³ pro kg. di peso) e producendo lo scatenamento di uno shock anafilattico alla distanza di non meno di 17 giorni dall'iniezione sensibilizzante, reiniettando l'antigene endovena (un cm³ di siero) con estrema lentezza.

Due conigli dei 6, furono sottoposti ad un solo ciclo (una iniezione sensibilizzante seguita dall'iniezione scatenante a 17 giorni di distanza); 2 conigli furono sottoposti a due cicli (un'iniezione sensibilizzante, dopo 17 giorni una scatenante; un giorno di intervallo; poi ancora una iniezione sensibilizzante seguita da un'altra scatenante a 17 giorni di distanza); 2 conigli furono trattati con tre cicli (una iniezione sensibilizzante e primo scatenamento dopo 17 giorni; un giorno di intervallo; ancora una iniezione sensibilizzante ed una scatenante dopo 17 giorni, ancora un giorno d'intervallo; un'ultima iniezione sensibilizzante seguita dalla scatenante dopo ancora 17 giorni).

Ciascun coniglio veniva ucciso il giorno seguente all'ultima dose shock (iniezione scatenante) prestabilito per ciascun animale: cioè vennero uccisi due animali al 18° giorno; due animali al 36° giorno; due animali al 54° giorno.

Questa modalità di tecnica sarà discussa nella valutazione dei risultati.

Altri 6 conigli, pure del peso di circa Kg. 1,500, furono trattati (tabella B). Questi animali analogamente subirono (a coppie di due) o un solo shock anafilattico, naturalmente non mortale; o due shock o tre shock. Però, a differenza dei conigli controllo, essi ricevettero endovena a giorni alterni, nell'intervallo tra ciascuna iniezione preparante e scatenante, 5 cm³ di una soluzione di salicilato di sodio al 10% in glucosio



FIG. 1 - Coniglio controllo B₁ (sottoposto ad un solo ciclo di shock serico: vedi testo). - Capillari decorrenti tra le fibrille miocardiche in stato di ectasia e congestione assai intense

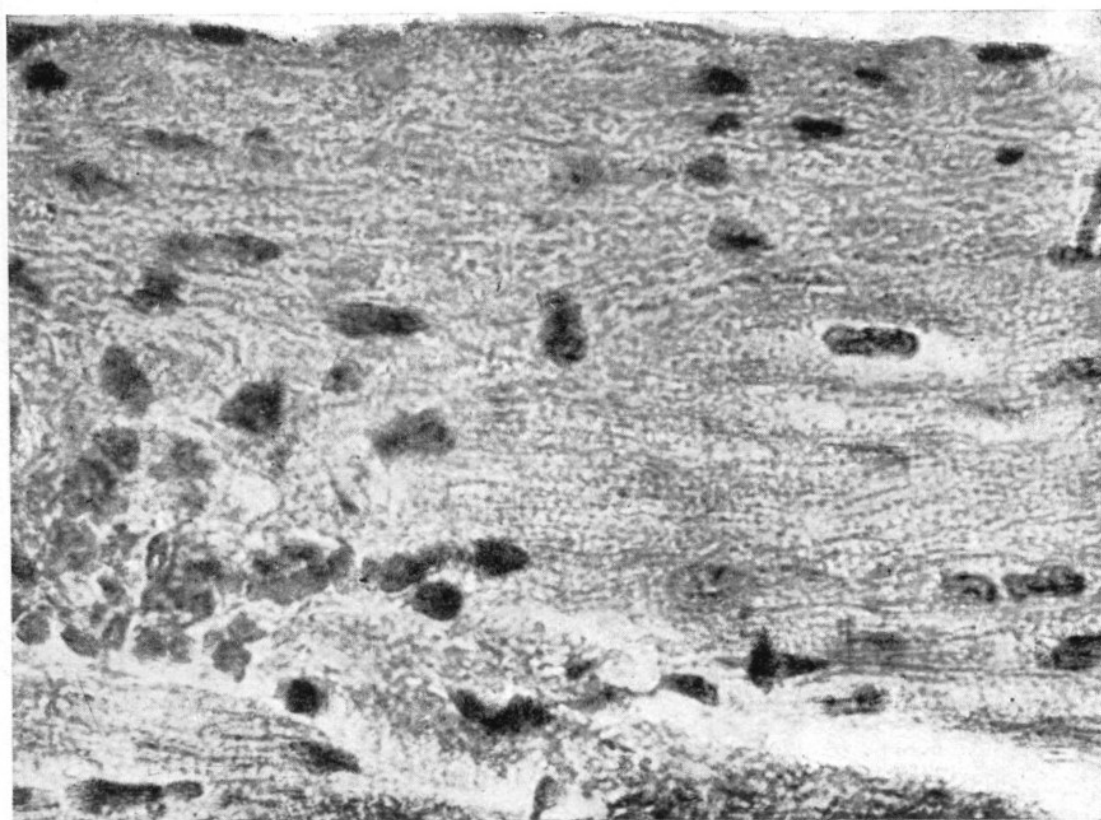


FIG. 2 - Coniglio controllo B₁ (sottoposto ad un solo ciclo di shock serico) - Tessuto muscolare con forte imbibizione plasmatica.

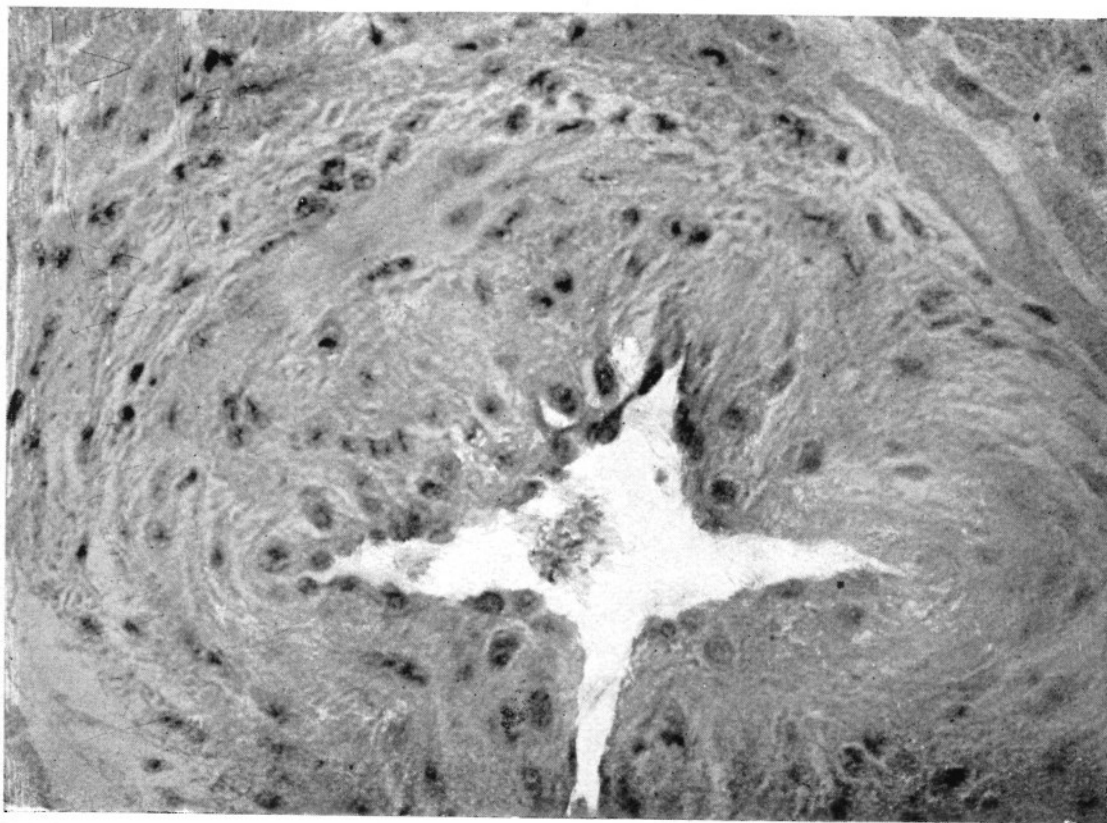


FIG. 3 - Coniglio controllo B₂ (sottoposto ad un solo ciclo di shock serico). - Vaso miocardico. La parete negli strati esterni appare considerevolmente omogeneizzata.

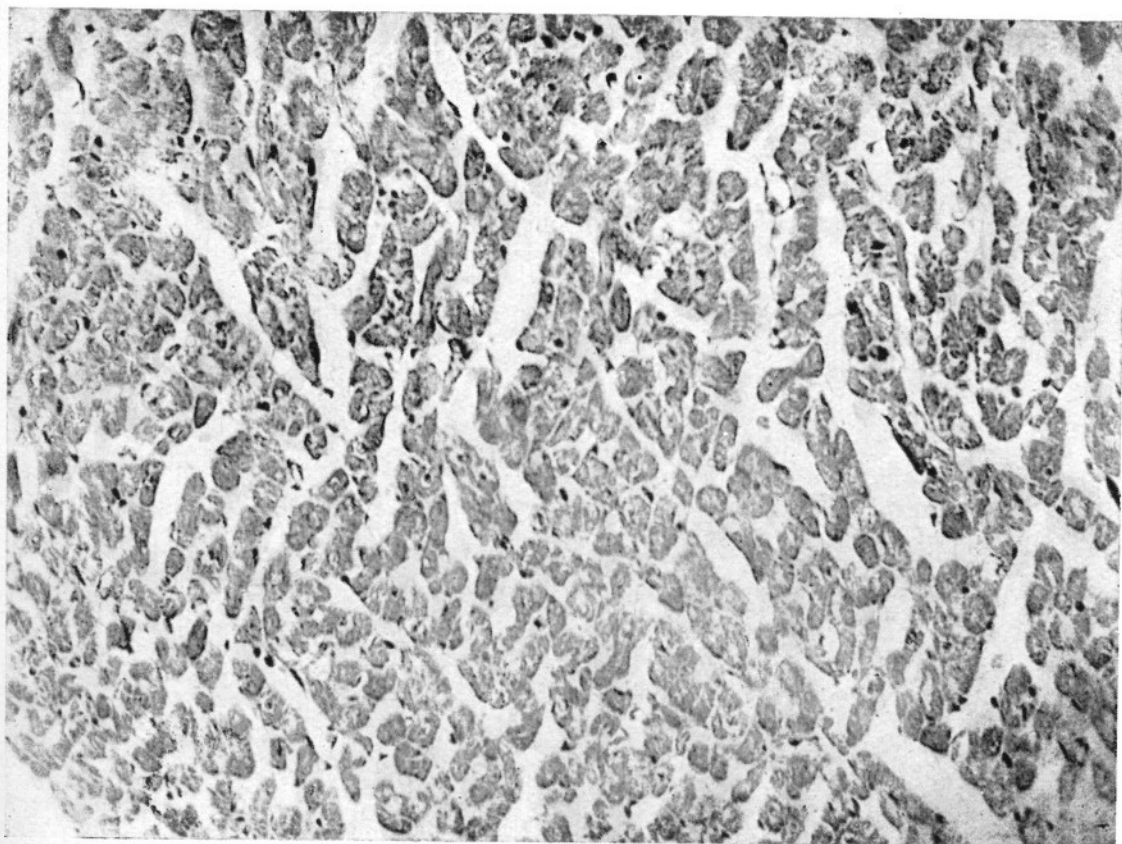


FIG. 4 - Coniglio controllo B₂ (sottoposto ad un solo ciclo di shock serico). Edema diffuso del tessuto muscolare.

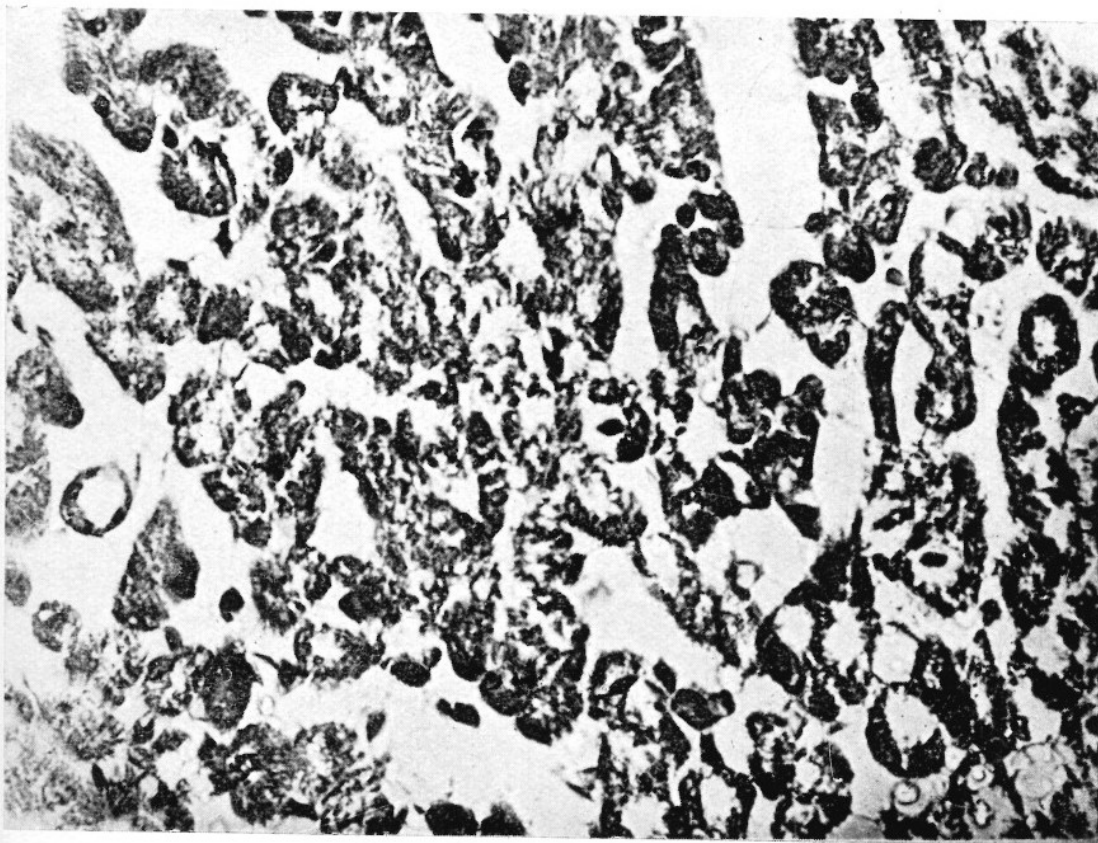


FIG. 5 - Dettaglio della precedente a più forte ingrandimento.

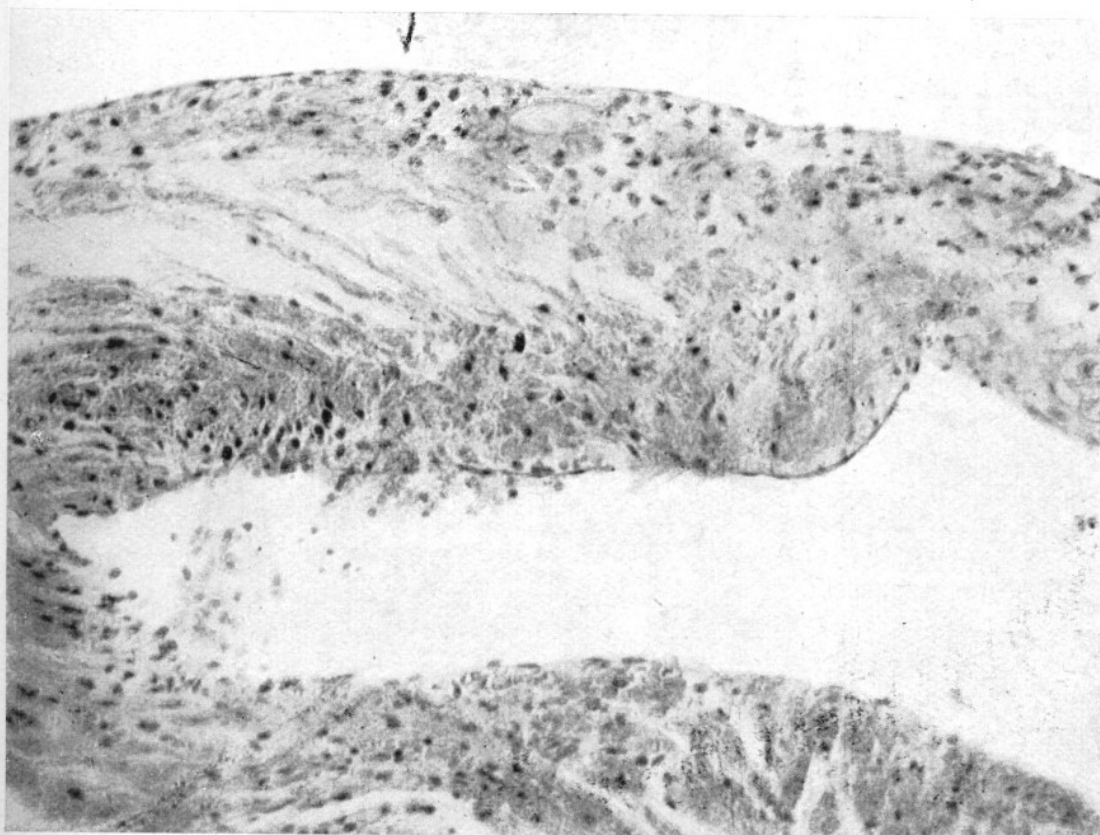


FIG. 6 - Coniglio controllo B₄ (sottoposto a due cicli di shock serico)
Endocardio edematoso con infiltrazione eosinofila in corrispondenza
della freccia.

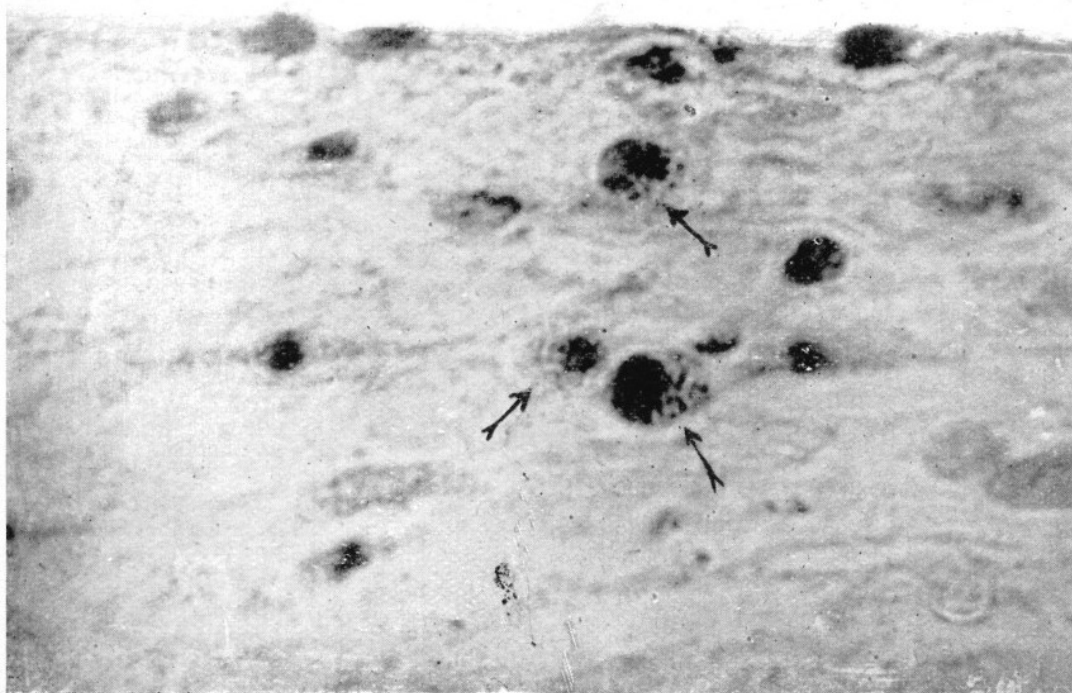


FIG. 7 - Dettaglio della figura precedente. Si osservano chiaramente tre polinucleati eosinofili immersi nel connettivo edematoso.

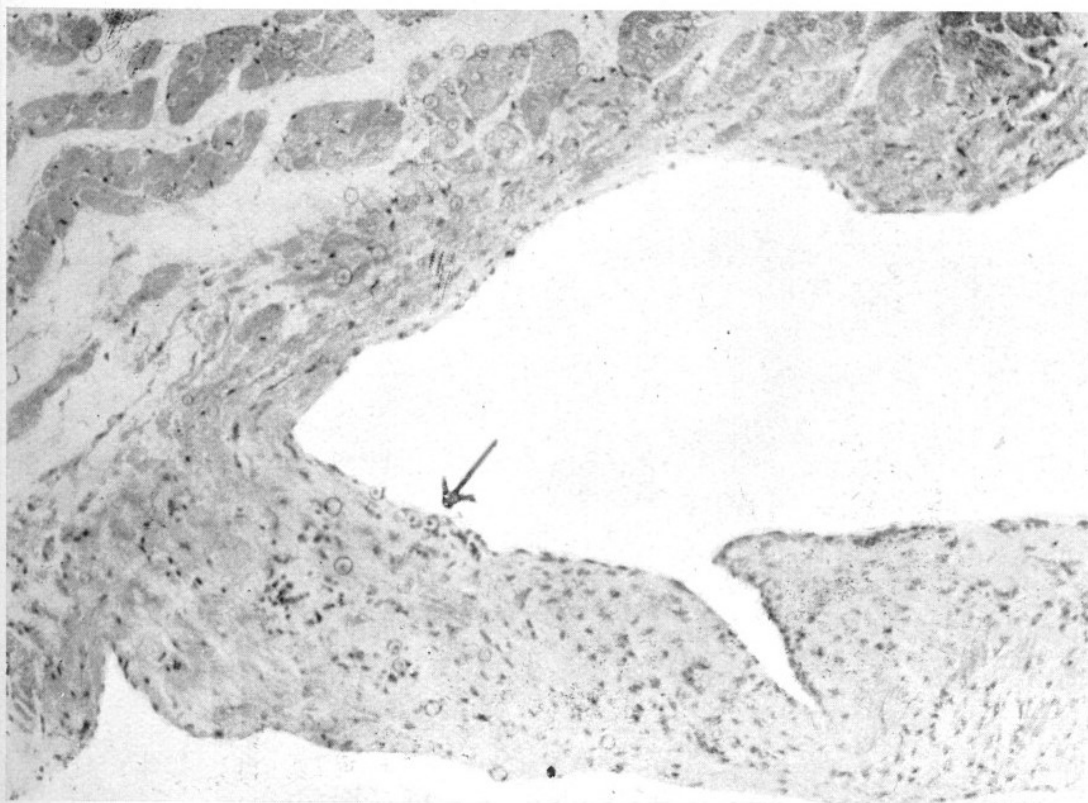


FIG. 8 - Coniglio controllo B₃ (sottoposto a due cicli di shock serico: vedi testo). - Base di una valvola che presenta un discreto stato infiltrativo.

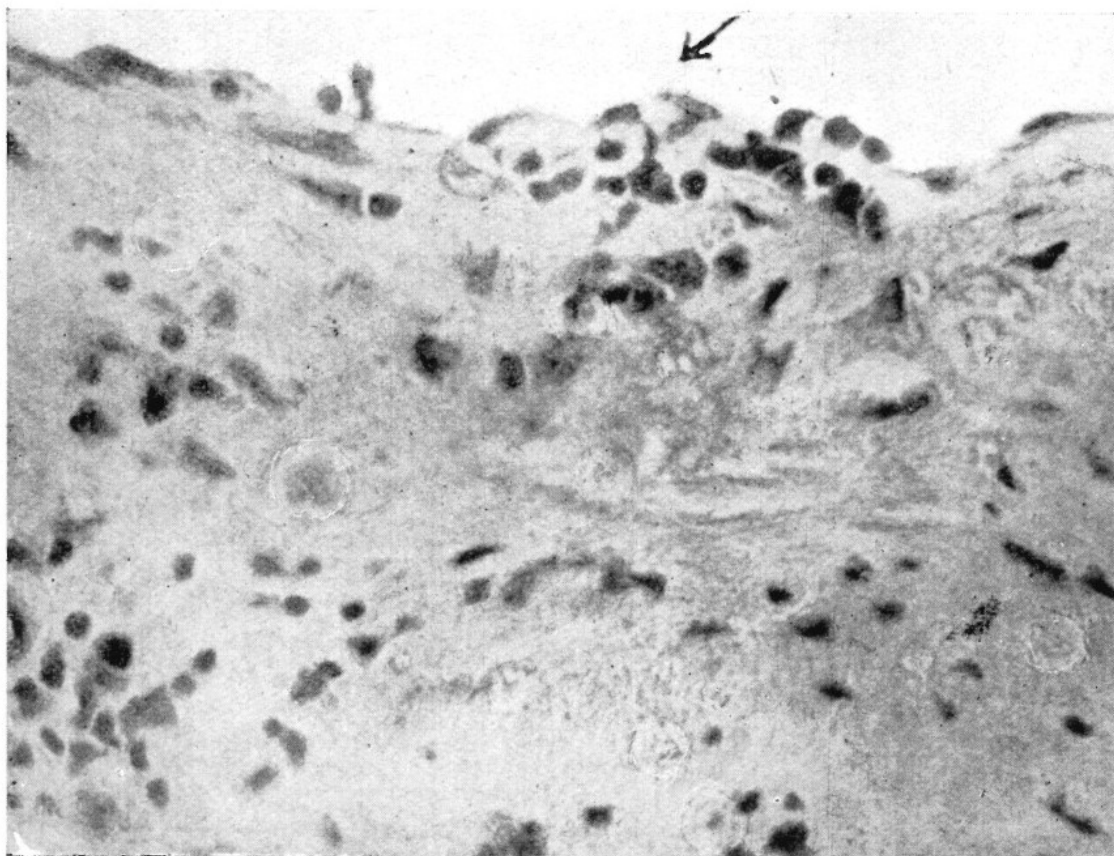


FIG. 9 - Dettaglio della figura precedente. Oltre l'infiltrato linfomonocitario dello strato sotto endocardico è palese un edema omogeneo della stessa zona.

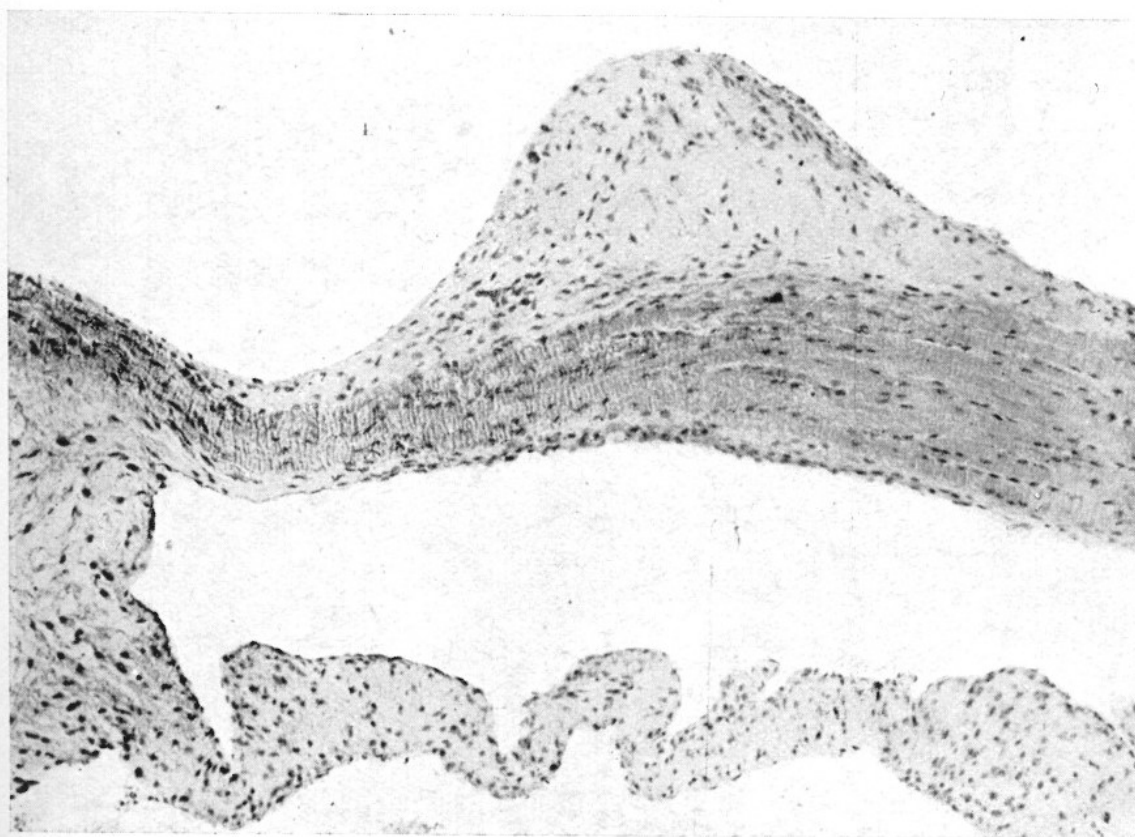


FIG. 10 - Coniglio controllo B₅ (sottoposto a tre cicli di shock serico: vedi testo). Formazione nodulare estrinsecante dal lembo di una valvola.

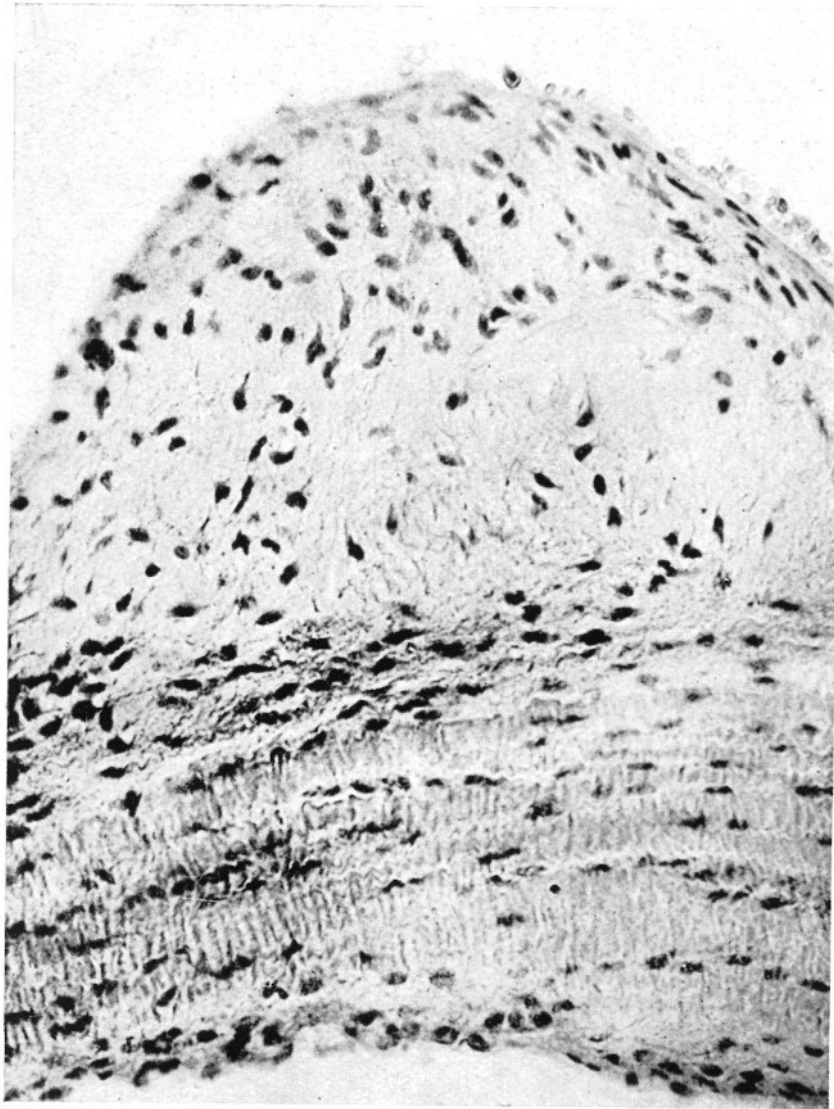


FIG. 11- - Dettaglio della figura precedente. Il nodulo è costituito da un connettivo rilassato nelle cui maglie appaiono elementi istiocitari e fibroblastici.

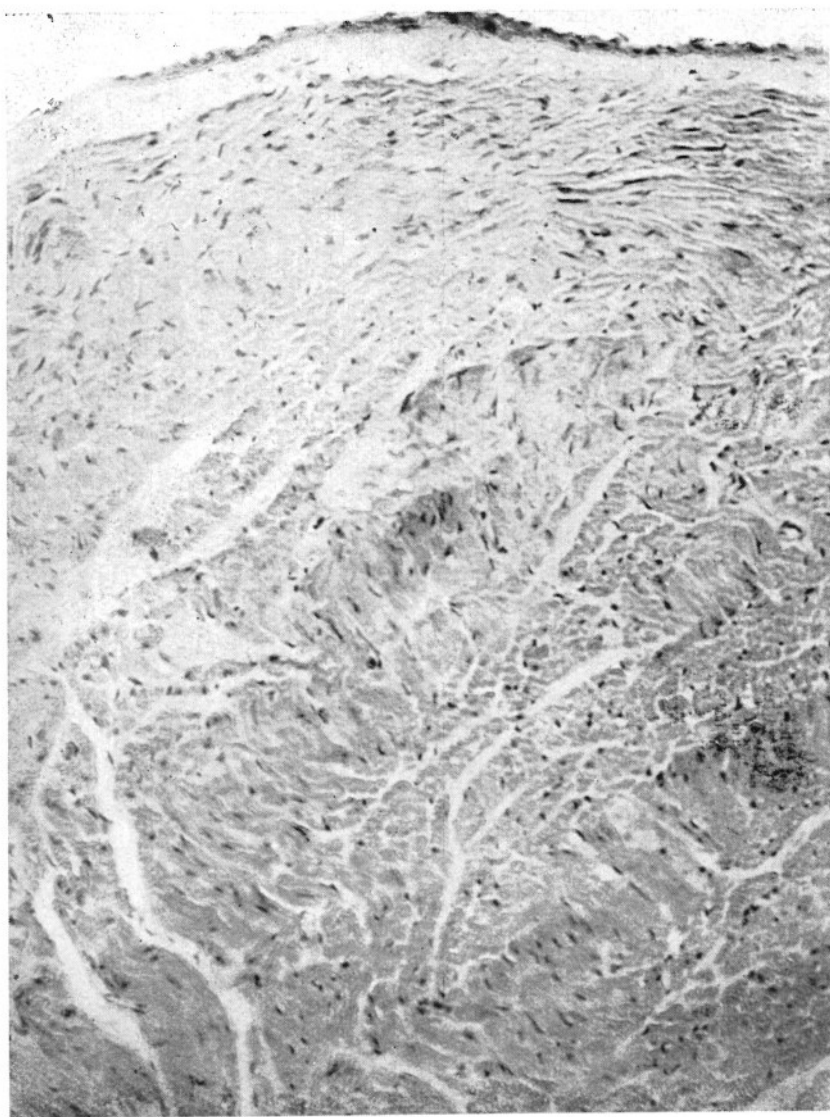


FIG. 12 - Coniglio R₃ (Sottoposto a due cicli di shock serico + g 8 di salicilato endovena). - Tessuto muscolare di aspetto normale.

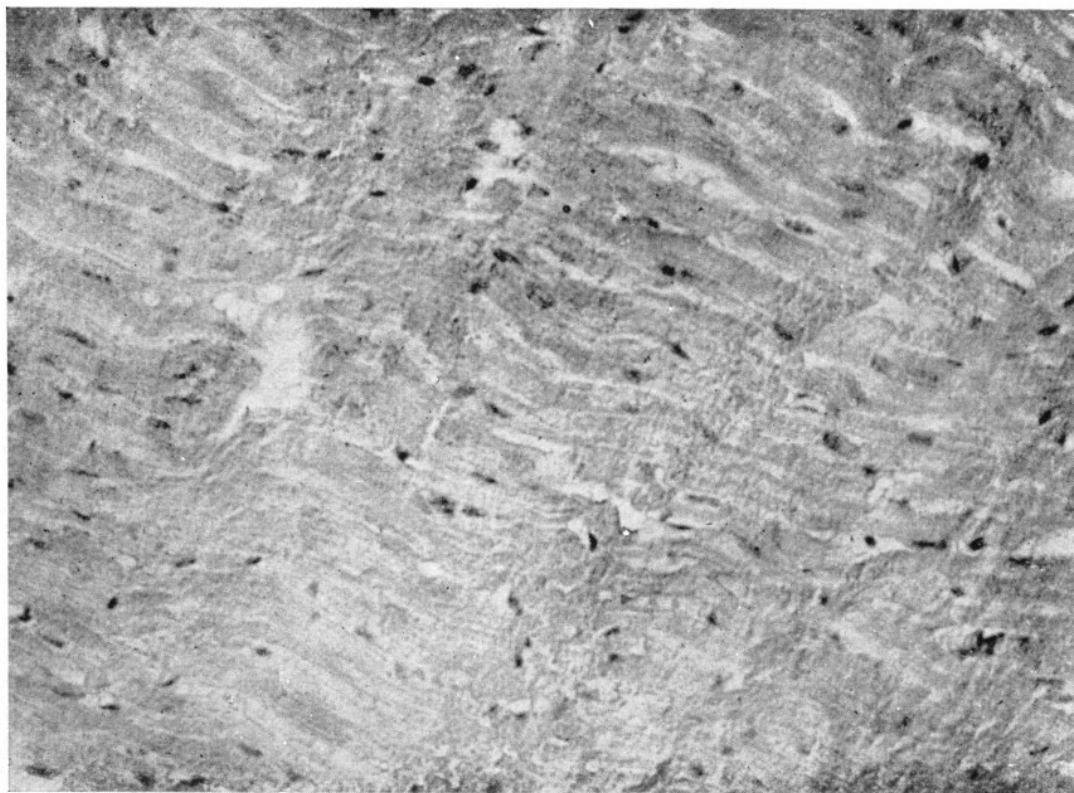


FIG. 13 - Coniglio R_4 (Trattato come coniglio R_3). Il Tessuto muscolare appare normale in tutti i suoi particolari.



FIG. 14 - Coniglio R_3 . - Nel corpo del tessuto muscolare si osservano due vasi sezionati longitudinalmente con lume ectasico, occupato da una sostanza omogenea, priva di cellule, riconoscibile come plasma: si tratta di « vasa serosa ».

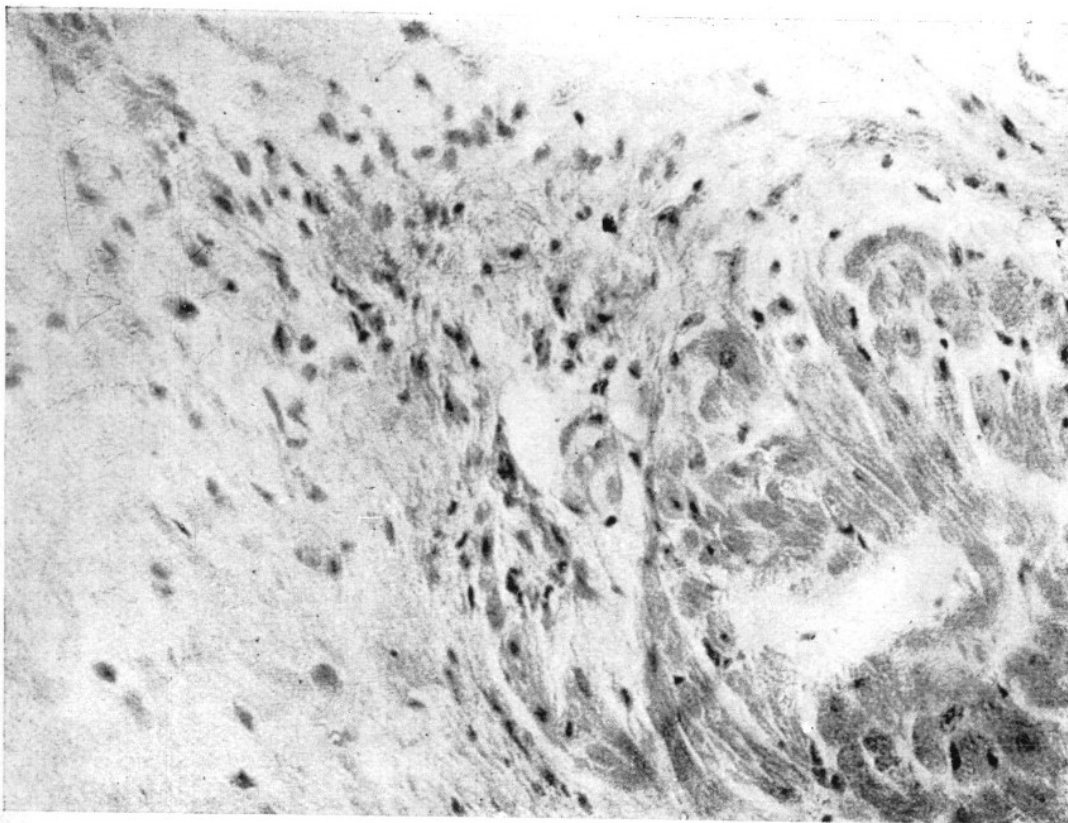


FIG. 15 - Coniglio R₅ (trattato con tre cicli di shock serico + g 12 di salicilato endovena). - Nel connettivo corrispondente alla base di impianto della valvola e soprattutto in prossimità del tessuto muscolare, si osserva un discreto infiltrato.

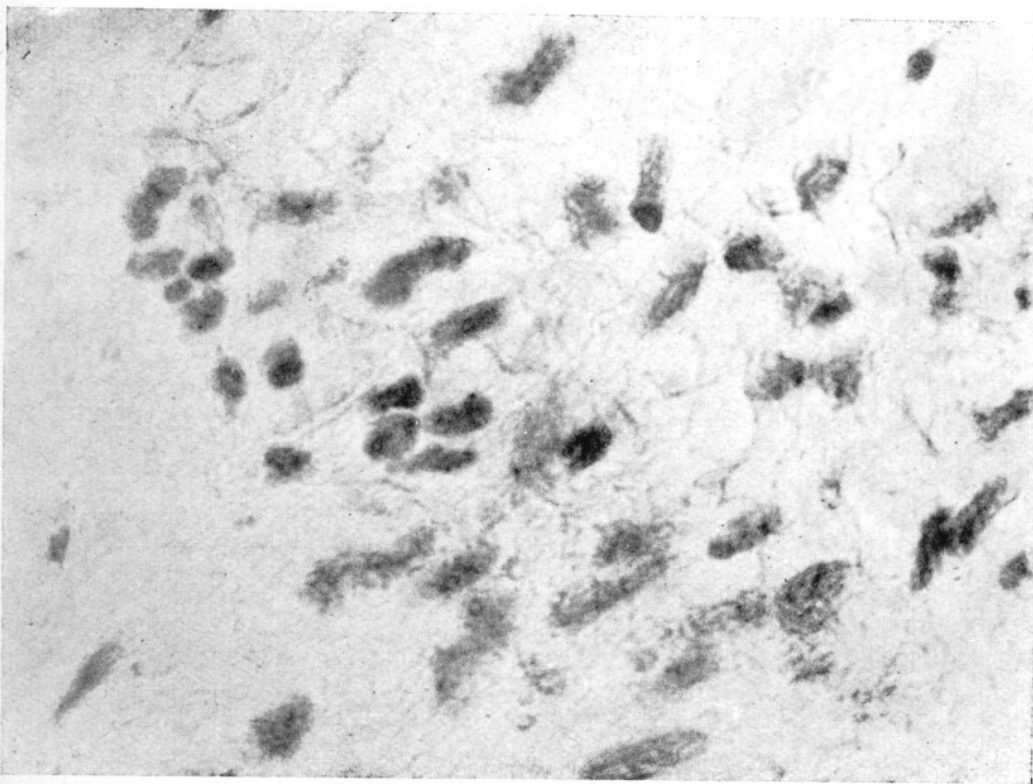


FIG. 16 - Coniglio R₅. Dettaglio della fig. precedente - A forte ingrandimento l'infiltrato appare costituito da cellule linfomonocitoidi. Si osserva inoltre stato di edema.

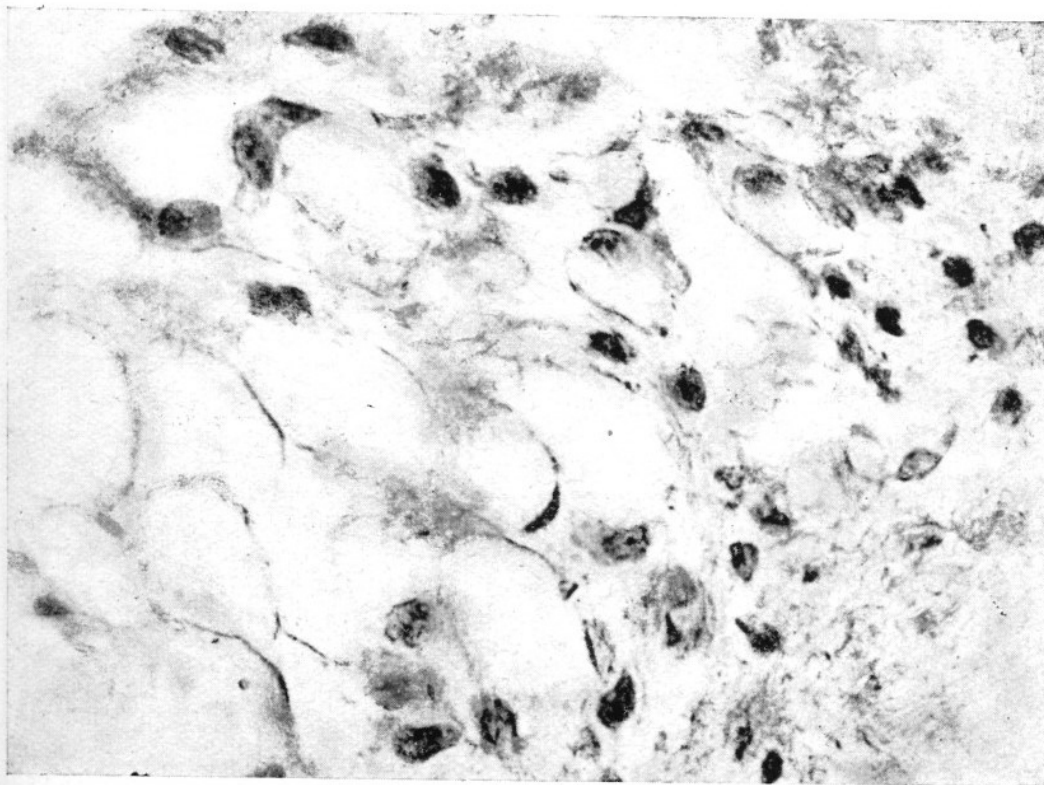


FIG. 17 - Coniglio R₅. Dettaglio della fig. 15. - Altra zona di stato infiltrativo costituito in prevalenza da cellule di tipo linfo-monocitario.

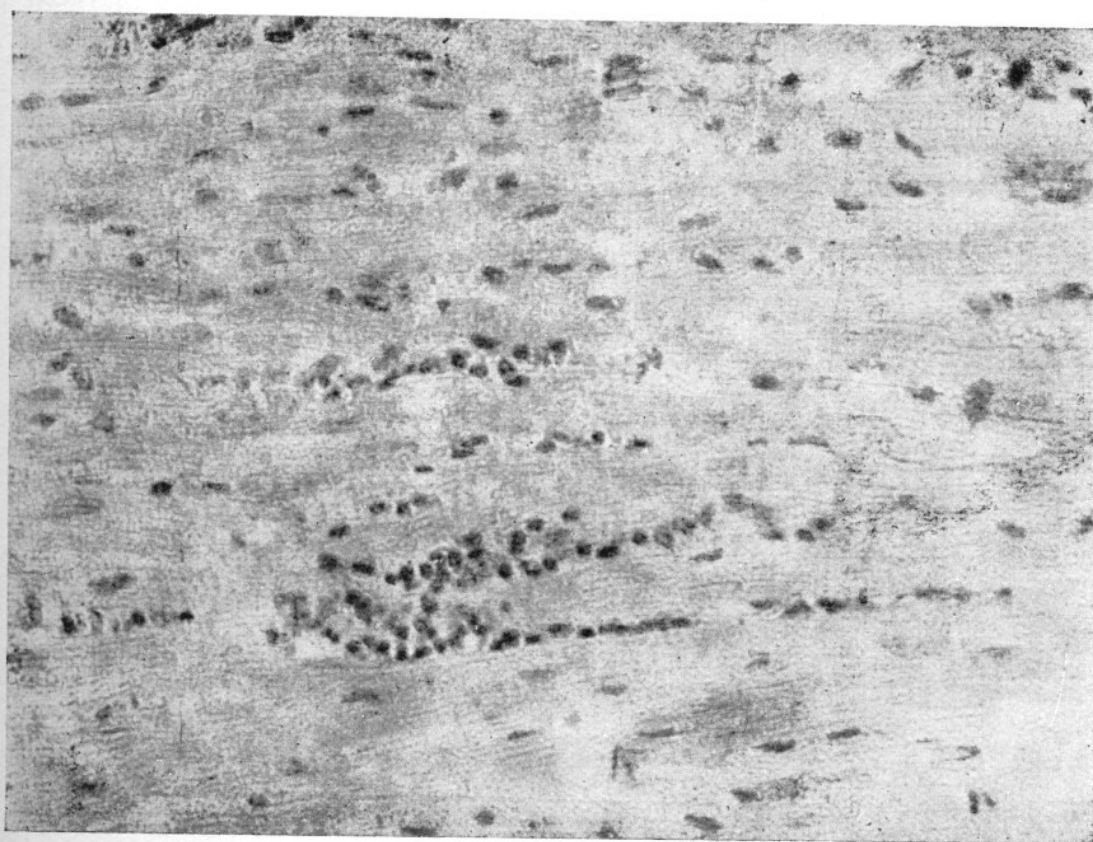


FIG. 18 - Coniglio R₅. Tessuto muscolare cardiaco tra le cui fibre si osservano netti focolai infiltrativi.

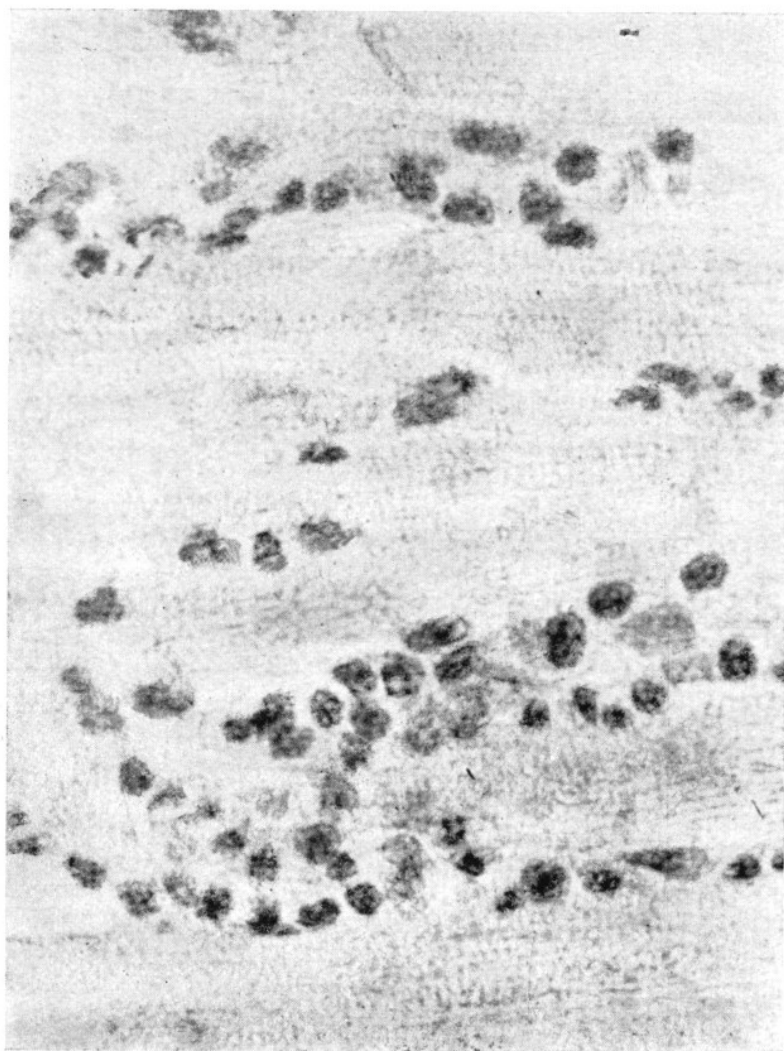


FIG. 19 - Coniglio R₅. Dettaglio della figura precedente.
- A più forte ingrandimento si rileva che l'infiltrato è
costituito prevalentemente da cellule linfocitarie e
monocitoidi, con rari polinucleati. Si nota anche un
discreto stato di edema.

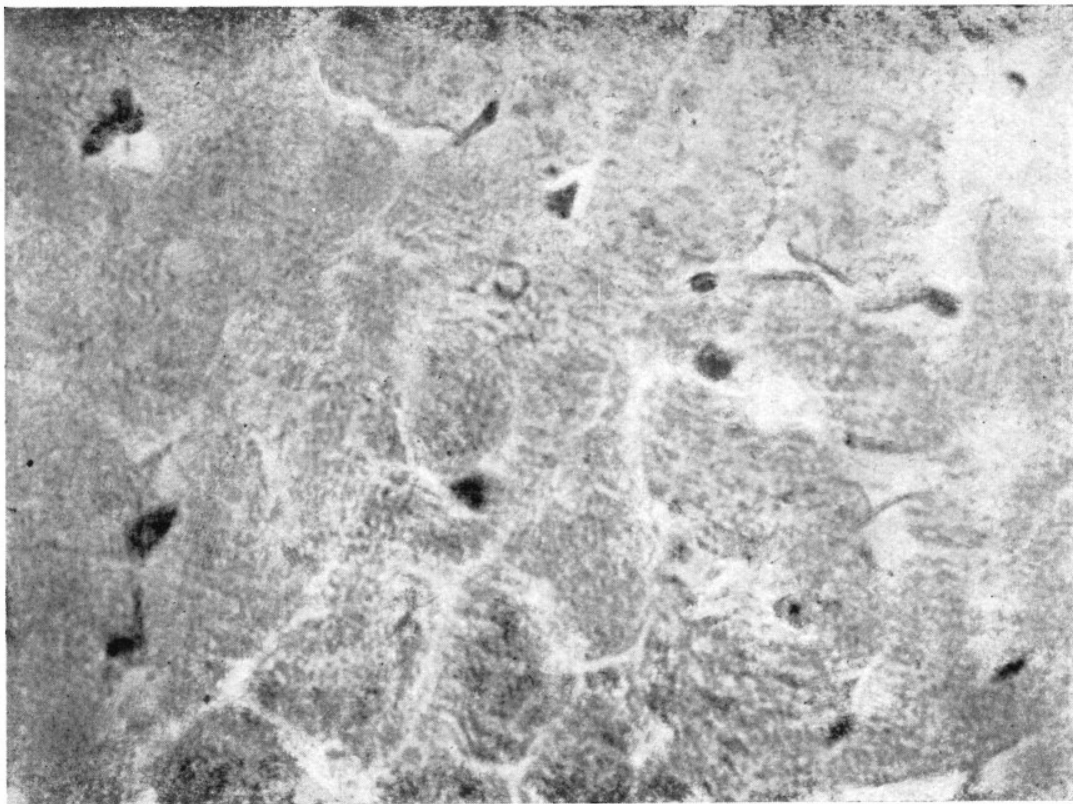


FIG. 20 - Coniglio R₆. Trattat ocome coniglio di cui alle figure 15, 16, 17, 18 e 19. - Modico edema del miocardio.

al 10%. Tali animali ricevettero cioè endovena, a giorni alterni, g 0,50 di salicilato più g 0,50 di glucosio.

I conigli che furono sottoposti ad un solo ciclo di sensibilizzazione con un unico scatenamento ricevettero complessivamente g 4 di salicilato; i conigli che furono sottoposti a due cicli di shock ricevettero g 8 di salicilato; ed i due conigli che subirono per tre volte lo shock anafilattico ricevettero g 12 di salicilato complessivi. Gli animali vennero sacrificati con lo stesso criterio già enunciato più sopra a proposito dei conigli controllo, salvo il coniglio R₅ morto per shock subito dopo la terza iniezione scatenante alla fine del III ciclo.

(Nota). — Siamo giunti alla determinazione di somministrare a giorni alterni endovena g 0,50 di salicilato + g 0,50 di glucosio dopo vari tentativi. In principio abbiamo tentato di adoperare la sola soluzione di salicilato nella dose di 1 g alla volta per via intramuscolare; ma gli animali, dopo 2, 3 iniezioni, presentavano segni di grave sofferenza locale: induramento delle parti molli, viva dolorabilità spontanea ed alla palpazione, paralisi del treno posteriore e morte in pochi giorni. Neppure l'aggiunta di glucosio (nella dose di 1 g) all'iniezione di salicilato rese questo più tollerabile per via intramuscolare; ugualmente scacco avemmo riducendo la dose a g 0,50 di salicilato + g 0,50 di glucosio in 10 cm³ di solvente; il disturbo furono ugualmente presenti e gli animali morivano dopo alcuni giorni.

Ci rivolgemmo allora alla via venosa; 1g di salicilato + 1 g di glucosio in 10 cm³ di solvente furono iniettati lentamente nei primi tentativi; gli animali, colpiti già durante l'iniezione da scosse tonico-cloniche, morivano subitamente dopo pochi secondi (30"-50") finita l'introduzione. La morte, per i sintomi presentati, ci è sembrata riportabile ad intolleranza da parte del Sistema Nervoso verso il salicilato.

Finalmente, dopo numerosi tentativi, ci siamo potuti servire della quantità di g 0,50 di salicilato di sodio + g 0,50 di glucosio in 5 cm³ di solvente, e siamo riusciti a far tollerare tale soluzione all'animale a patto di iniettare con estrema lentezza, alla velocità di cm³ 0,1 della soluzione ogni 10" circa.

La menoma deroga da tale velocità costa per lo più la vita all'animale, almeno secondo la nostra esperienza.

TABELLA B.
 QUADRO SINOTTICO DELLE RICERCHE SPERIMENTALI (*Animali trattati con salicilato di sodio*)

Conigli	Giornate di esperienza										
	I	II	IV	VI	VIII	X	XII	XIV	XVI		
R ₁	I ^a sensibilizzazione (*)	Sal. end. (**)	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.
R ₂	I ^a sensibilizzazione.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.
R ₃	I ^a sensibilizzazione.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.
R ₄	I ^a sensibilizzazione.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.
R ₅	I ^a sensibilizzazione.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.
R ₆	I ^a sensibilizzazione.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.

(*) La sensibilizzazione, fu eseguita con l'introduzione endovena di un'unica dose di siero normale di cavallo nella quantità di cm.³ 10 per kg di peso dell'animale.

(**) La sigla *Sal. end.* indica l'iniezione endovenosa di g 0,50 di salicilato di sodio + g 0,50 di glucosio in 5 cm³ di acqua.

Segue: TABELLA B.

Conigli	Giornate di esperienza									
	XVII	XVIII	XIX	XX	XXII	XXIV	XXVI	XXVIII	XXX	
R ₁	I° scatenamento (*)	Ucciso								
R ₂	I° scatenamento.	Ucciso								
R ₃	I° scatenamento.	Riposo	II ^a sensibilizzazione.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	
R ₃	I° scatenamento.	Riposo	II ^a sensibilizzazione.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	
R ₅	I° scatenamento.	Riposo	II ^a sensibilizzazione.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	
R ₆	I° scatenamento.	Riposo	II ^a sensibilizzazione.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	

(*) Lo scatenamento fu eseguito a mezzo di reinoculazione endovena di cm³ 1 di siero normale di cavallo.

Segue: TABELLA B.

Conigli	Giornate di esperienza									
	XXXII	XXXIV	XXXV	XXXVI	XXXVII	XXXVIII	XL	XLII	XLIV	XLVI
R ₁										
R ₂										
R ₃	Sal. end.	Sal. end.	II° scatenamento.	Ucciso						
R ₄	Sal. end.	Sal. end.	II° scatenamento.	Ucciso						
R ₅	Sal. end	Sal. end.	II° scatenamento.	Riposo	III ^a sensibilizzazione	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.
R ₆	Sal. end.	Sal. end.	II° scatenamento.	Riposo	III ^a sensibilizzazione	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.

Conigli	Giornate di presenza				N O T E
	LXVIII	L	LII	LIII	
R ₁					Ucciso dopo un ciclo di shock intramezzato con somministrazione di gr. 4 di salicilato.
R ₂					Ucciso dopo un ciclo di shock intramezzato con somministrazione di gr. 4 di salicilato.
R ₃					Ucciso dopo 2 cicli di shock intramezzati da somministrazione di gr. 8 complessivi di salicilato.
R ₄					Ucciso dopo 2 cicli di shock intramezzati da somministrazione di gr. 8 complessivi di salicilato.
R ₅	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	III° scatenamento. Morte per shock dopo 5' dall'iniezione.	Morte per shock dopo 3 cicli di shock intramezzati da somministrazione di gr. 12 complessivi di salicilato.
R ₆	Sal. end.	Sal. end.	Sal. end.	III° scatenamento.	Ucciso dopo 3 cicli di shock intramezzati da somministrazione di gr. 12 complessivi di salicilato.

L'aggiunta di glucosio alla soluzione di salicilato ci è sembrata migliorarne la tollerabilità; l'iniezione a giorni alterni, oltre che permettere un certo riposo all'animale, poteva servire a difendere, in certo qual modo, le vene da una rapida trombosi.

L'introduzione di g 0,50 di salicilato ogni 2° giorno corrisponderebbe alla dose di g 0,25 di salicilato pro die. Se noi somministriamo a scopo terapeutico g 12 pro die di salicilato ad un individuo di 50 Kg di peso (dose più comunemente somministrata in media [Fiessinger ⁽²⁹⁾, Coburn ⁽³⁰⁾]) la quantità riportabile ad ogni Kg corporeo è appunto di g 0,24; abbiamo quindi voluto mantenere un certo parallelismo con la patologia umana, dato che i nostri conigli in media non hanno sorpassato Kg 1,500 di peso.

PROTOCOLLI SPERIMENTALI

Gli esami istologici dei 6 conigli di controllo (B₁ B₂ B₃ B₄ B₅ B₆, tabella A), che furono sottoposti solo ad uno oppure a più shock anafilattici, mostrano una certa costanza di reperti, riportabili sostanzialmente a quanto già trovammo in un nostro precedente lavoro [Lucherini e Pala ⁽¹⁹⁾], e cioè:

1) I cuori dei conigli sottoposti ad un solo shock anafilattico (una iniezione di siero sensibilizzante ed una iniezione scatenante alla distanza di 17 giorni) mostrano: *a*) notevole congestione dei vasi; edema del connettivo (alterazioni di « tipo funzionale » secondo Kline); *b*) imbibizione e scarsa colorabilità delle fibre miocardiche; *c*) assenza di evidenti fenomeni proliferativi ed infiltrativi a carico dei tessuti (vedi fig. 1, 2, 3, 4, 5).

2) I cuori dei conigli sottoposti a due shock anafilattici (un'iniezione sensibilizzante ed una scatenante alla distanza di 17 giorni; un giorno di riposo; poi di nuovo un'iniezione sensibilizzante ed una scatenante allo stesso intervallo di tempo) mostrano invece lesioni microscopiche molto più evidenti, e cioè: *a*) edema del collagene inter-fibrillare e dei lembi valvolari ed intorno ai vasi sanguiferi; alterazioni delle fibre muscolari stesse; *b*) infiltrazioni di polinucleari eosinofili nella compagine del tessuto muscolare e nel connettivo sotto-endocardico valvolare con proliferazione di elementi mononucleari che, alle volte, insieme all'edema producono (rara-

⁽²⁹⁾ N. FIESSINGER, citato da Lucherini.

⁽³⁰⁾ A. F. COBURN, « Bull. Johns Hopkins Hosp. », 73, 43 (1943).

mente almeno nei nostri casi) sporgenze al disotto della lamina dell'endocardio valvolare (alterazioni del « tipo infiammatorio » secondo la dizione di Kline) (vedi fig. 6, 7, 8, 9).

3) I cuori dei conigli sottoposti, con il ritmo sopraccennato, a tre periodi di shock serico mostrano alterazioni su per giù simili a quelle dei cuori dei conigli di cui al n. 2), salvo che le lesioni riscontrate appaiono più numerose nelle sezioni microscopiche (vedi fig. 10, 11).

Non potemmo riscontrare, in questi nostri casi, formazioni di veri e propri noduli del tutto simili ai « corpi di Aschoff » come altri AA. hanno trovato (Rich e Gregory, Hawn e coll., Mooere e coll.).

I reperti istologici dei sei conigli (R_1 R_2 R_3 R_4 R_5 R_6 , tabella B), trattati con 1, 2, 3 shock serici ma in cui, tra ciascuna iniezione sensibilizzante e ciascuna scatenante furono somministrati endovena g 4 di salicilato di sodio per ciascun ciclo di shock, sono riportati qui appresso per esteso (*).

Coniglio R_1 (Un'iniezione sensibilizzante ed una scatenante a 17 giorni di distanza; tra l'una e l'altra g 4 di salicilato di sodio).

Le sezioni di questo cuore mostrano a carico del tessuto muscolare una certa rarefazione dei nuclei con modico stato iperemico evidente soprattutto in corrispondenza dei muscoli papillari. Nulla a carico dell'endocardio. Il tessuto connettivo della base delle valvole si presenta di aspetto normale: così pure il resto delle valvole stesse.

Coniglio R_2 (Trattamento come al coniglio R_1).

L'esame delle sezioni non rivela alcuna alterazione del pericardio. Normale appare la struttura del miocardio in tutte le sue parti e in particolar modo dei muscoli papillari. Le singole fibre infatti presentano tingibilità normale, senza alcun segno di sofferenza nucleare. Invece si nota un modico stato iperemico riscontrabile omogeneamente su tutte le parti del preparato. I capillari interfibrillari sono ectasici e spesso ingorgati di emazie. Va rilevato che l'indagine condotta al livello dei lembi valvolari non rivela alterazioni di sorta.

(*) Tanto i cuori dei conigli di cui alla Tabella A che alla Tabella B furono sezionati, subito dopo la morte dell'animale, in modo da asportare la valvola mitrale con l'anello di impianto e parte del tessuto mio-endocardico circumvicino. I pezzi furono fissati in soluzione fisiologica-formolo al 10% e poi colorati all'ematosilina-eosina.

Coniglio R₃ (Una iniezione sensibilizzante ed una scatenante a 17 giorni di distanza: tra l'una e l'altra 4 g di salicilato di sodio. Un giorno di intervallo; poi di nuovo una iniezione sensibilizzante ed una scatenante pure a 17 giorni di distanza; tra le seconda sensibilizzante e la seconda scatenante ancora 4 g di salicilato di sodio).

L'esame del tessuto muscolare non mostra in tutte le sezioni esaminate alterazioni istologiche particolarmente degne di rilievo. La tingibilità delle fibre appare ovunque normale, e così pure la loro struttura. Ugualmente normali per configurazione e tingibilità appaiono i nuclei (vedi fig. 12). Nessun segno di infiltrazione nel connettivo interfibrillare, nè in quello più abbondante situato in prossimità dei grossi vasi.

A carico dei vasi può osservarsi, in taluni punti, un certo stato di ectasia soprattutto evidente a carico dei capillari; nelle zone ove questo stato è evidente si trovano i vasi di maggior calibro occupati esclusivamente da plasma (vasa serosa) (vedi fig. 14). In queste stesse zone il tessuto muscolare è modicamente edematoso per cui le sue fibrille appaiono rischiarate e rigonfie. La lamina endocardica appare normale in tutto il decorso della sezione; e così pure il tessuto valvolare, anche nel suo punto di riflessione sull'endocardio parietale.

Coniglio R₄ (Trattato come il coniglio R₃).

Pericardio normale in tutto il suo decorso: Il tessuto muscolare si presenta di struttura normale in ogni parte (vedi fig. 13). Nulla a carico dell'endocardio e dei lembi valvolari.

Mancano nel connettivo segni di reazione flogistica o di edema.

Coniglio R₅ (Una iniezione sensibilizzante ed una scatenante a 17 giorni di intervallo; tra l'una e l'altra 4 g di salicilato di sodio. Un giorno di intervallo; poi di nuovo una iniezione sensibilizzante ed una scatenante pure a 17 giorni di distanza: tra la seconda sensibilizzante e la seconda scatenante 4 g di salicilato. Ancora un giorno d'intervallo, poi di nuovo una terza iniezione sensibilizzante ed una terza scatenante [seguita subito dopo da morte per shock] dopo 17 giorni e nell'intervallo ancora 4 g di salicilato di sodio).

Pericardio di aspetto normale. All'esame del miocardio si rilevano frequenti aree di edema che dal connettivo investe la stessa componente fibrillare: a tale edema si accompagnano, in alcuni distretti vascolari, stati di « vasa serosa ». In alcune zone, fra le singole fibre miocardiche,

si osservano infiltrati leucocitari (vedi fig. 18, 19) cui alle volte si accompagnano leucociti eosinofili. L'osservazione della lamina endocardica non mostra particolari alterazioni di struttura. Alterate appaiono invece le valvole; alla radice di una di esse si osserva una certa reazione istiocitaria cui si accompagna una reazione linfomonocitaria con edema (vedi fig. 15, 16, 17). Nel corpo della valvola si possono ritrovare le stesse alterazioni accompagnate da rarissimi eosinofili.

Coniglio R₆ (Trattato come coniglio R₅). Ucciso il giorno dopo la 3^a iniezione scatenante.

Nulla a carico del pericardio. Il tessuto miocardico è di aspetto normale, ad eccezione di talune zone dei muscoli papillari ove si riscontra un certo stato di edema (vedi fig. 20). I lembi valvolari appaiono in alcune zone infiltrati di elementi linfomonocitari, specie nella zona immediatamente sotto-endocardica.

VALUTAZIONE DEI RISULTATI

I rilievi qui appresso espressi si dividono in due gruppi:

- 1) considerazioni e valutazione delle modalità di tecnica impiegata;
- 2) analisi dei risultati ottenuti nei vari lotti di animali trattati con cicli di shock e salicilato di sodio nei confronti dei conigli controllo sottoposti a soli shock anafilattici.

1) La tecnica da noi impiegata, di sottoporre cioè lo stesso animale anche a più di uno shock anafilattico successivamente, a breve distanza di tempo, potrebbe far sorgere il dubbio che il 2° ed il 3° shock serico nulla potessero aggiungere ai danni istologici da ipersensibilità prodotti dal 1° shock in quegli animali che ricevettero 2 e 3 shock in tutto.

E ciò si appoggerebbe alla nozione classica, che quando un animale sensibilizzato riceve una iniezione scatenante cui segue uno shock non mortale, l'animale stesso rimane insensibile (immune) ad ogni nuova reintroduzione di siero, almeno per un certo periodo di tempo.

Questo concetto certamente va sottoposto a revisione poichè, anche i brevi intervalli di tempo dopo la scatenante, possono essere sufficienti a permettere una nuova sensibilizzazione dell'animale [Boid⁽³¹⁾].

(³¹) W. C. Boid, Fundamentals of Immunology. Staples publication (1946).

E' parso anche a noi poter constatare come, pure a breve intervallo di tempo dalla iniezione scatenante, la risensibilizzazione sia possibile.

Del resto ciò è ammesso implicitamente dagli AA. che si sono occupati, pur su animali diversi, di analoghe ricerche con analoga, se non uguale, tecnica della nostra.

Rich e Gregory, p. e., sottoponevano i loro conigli ad un duplice periodo di sensibilizzazione e scatenamento con siero di cavallo e l'intervallo tra il primo ciclo di shock (durata: 17 giorni) ed il secondo ciclo (durata: 14 giorni) era di un solo giorno; Moore e coll. sottoponevano i loro topi a sensibilizzazioni unica o multiple ad intervallo regolare di tempo di 8, 15, 22 giorni dopo la prima sensibilizzazione; gli animali che avevano avuto una sola « dose shock », ed erano stati uccisi dopo soli otto giorni, presentavano lesioni cardiache molto « meno floride » che non gli animali che avevano avuto più « dosi shock »; questi ultimi AA. considerano testualmente « ... che dosi shock multiple possono essere più che additive » (may be more than additive).

Nei nostri animali due dati sono favorevoli a far considerare i fatti sotto tale punto di vista:

a) il coniglio R₅, tabella B, che aveva già sopportati due cicli di shock (con un intervallo di un giorno tra la fine di un ciclo e l'inizio dell'altro) e che aveva sopportato apparentemente bene senza alcun disturbo visibile le due reiniezioni scatenanti endovena di siero, è stato visto soccombere per shock anafilattico dopo cinque minuti dalla terza reiniezione endovena dell'antigene (1 cm³) alla fine del terzo ciclo di sensibilizzazione (vedi tabella B); ciò non sarebbe potuto mai avvenire se, secondo i dettami classici, la prima o la seconda iniezione scatenante avessero esaurito, senza possibilità di rinnovo, la ipersensibilità del coniglio; la terza iniezione sensibilizzante e la terza scatenante, praticata dopo 17 giorni, avrebbero cioè trovato un animale refrattario perchè immune.

b) I reperti istologici negli animali controllo (tabella A) (vedi protocollo sintetico annesso) parlano chiaramente per una maggiore evidenza di lesioni in quelli sottoposti a tre cicli di shock che non in quelli che hanno subito due cicli od uno soltanto (Lucherini e Pala). Se la prima iniezione scatenante avesse in tali animali esaurita, per notevole lasso di tempo, ogni possibilità di nuova sensibilizzazione, i dati istologici esposti riuscirebbero inesplicabili.

Nè ci pare possibile ammettere che le lesioni riscontrate negli animali in esame stiano a rappresentare le così dette « lesioni spontanee » possibili sia nei topi (Moore) che nei conigli (Rich e Gregory); perchè esse appaiono tipiche per lesioni istologiche di natura allergica e perchè d'altra parte in tre cuori di coniglio, in nessun modo trattati e da noi sacrificati e di cui allestimmo preparati istologici, non ci è stato dato di notare nulla di simile.

2) Per quanto riguarda le deduzioni che possono scaturire dai confronti tra animali sottoposti a soli shock anafilattici (unico, duplice o triplice) con quelli che subirono 1, 2, 3 shock ma ebbero anche contemporaneamente somministrazione di salicilato di sodio, possiamo dire come sia possibile constatare che, nei cuori degli animali che furono sottoposti ad un solo shock ed uccisi dopo 17 giorni e che ricevettero g 4 complessivi di salicilato (conigli R_1 , R_2), il microscopio non mostrò nessuna alterazione istologica apprezzabile salvo una lieve iperemia diffusa (osservazioni su sezioni fatte in punti diversi della valvola mitrale e del miocardio); non è stato visibile quel discreto stato di edema del connettivo interfibrillare e valvolare ed intorno ai vasi sanguiferi che nei controlli si era trovato (vedi fig. 1, 2, 3, 4, 5).

Stesso reperto negativo (vedi fig. 12, 13, 14) nei cuori dei conigli sottoposti a due cicli completi susseguenti di sensibilizzazione e scatenamento e somministrazione di g 8 complessivi di salicilato di sodio (conigli R_3 , R_4). In questi due animali la differenza istologica con gli animali controllo, che furono sottoposti a due shock senza però somministrazione di salicilici (vedi tabella A conigli B_3 , B_4), balza agli occhi con la sola lettura dei rispettivi protocolli istologici (vedi anche fig. 6, 7, 8, 9).

Negli animali invece che subirono tre cicli di shock anafilattico ed a cui furono somministrati g 12 complessivi di salicilato (4 g per ciclo), conigli R_5 , R_6 , l'esame istologico del cuore mostrò, come si rileva dai protocolli, lesioni che, seppure non raggiungono quelle degli animali controllo (tre shock senza però somministrazione intercalata di salicilato), tuttavia si rivelano abbastanza marcate (vedi fig. n. 15, 16, 17, 18, 19, 20).

Si sarebbe portati a concludere che, là dove gli stimoli sensibilizzanti si ripetono reiteratamente nel tempo, i mezzi terapeutici abbiano un'azione ipo-sensibilizzante ed un potere minore di quando tali stimoli abbiano influito un numero minore di volte sull'organismo. I risultati da noi otte-

nuti nella presente nota sono paralleli a quelli riscontrati provocando la febbre artificiale, per saggiarne il potere antiallergico (Lucherini e Pala), in conigli trattati con una metodica sperimentale di sensibilizzazione e scatenamento analoga a quella impiegata da noi in questo lavoro.

Tanto la piressia provocata che i salicilici hanno mostrato, nelle nostre ricerche, una azione anti-allergica, tanto più spiccata quanto più gli stimoli sensibilizzanti siano meno ripetuti nel tempo.

Desiderando accennare al meccanismo di azione con cui possa avere influito il salicilato di sodio sui fenomeni illustrati, tale medicamento, con e già si è detto più sopra, sembrerebbe, secondo alcuni AA. [Swift (²⁴)], agire direttamente sull'antigene alterandone il potere sensibilizzante oppure diminuendone la quantità di assorbimento nell'organismo; secondo altri potrebbe invece il salicilato diminuire o inibire la formazione stessa degli anticorpi [Derick (²⁵)].

Del resto se noi ricordiamo brevemente la storia del salicilato di sodio nella terapia della m.r., ci accorgiamo facilmente delle sue alterne fortune.

Iniziatone l'uso in terapia per opera di precursori come Stricker (1873) e Germain See (1877), dalle prime vedute, per cui la sua azione fu considerata come specifica contro l'infezione reumatica e le sue manifestazioni articolari ed extra-articolari (cardiache, sierosistiche, oculari, nervose ecc.), si passò poi alla concezione di un'azione non elettiva sulla malattia stessa: il salicilato fu considerato cioè come un buon mezzo terapeutico ad influenza però puramente sintomatica sulle manifestazioni cliniche, senza vero e proprio specifico potere di inibizione, modificazione o prevenzione sulle lesioni cardiache in evoluzione e sulle ricorrenze poli-articolari. Si attribuì così uno scarso valore al potere specifico del salicilato di sodio nella m.r., ed una serie di studiosi, sulla scorta di tali vedute, giunse a consigliare l'uso dei pirazolici (piramidone a forti dosi per os) [Schottmüller (³²), Carusi (³³)] od a dosi refratte per vena

(³²) SCHOTTMÜLLER, Muenchn. med. Wchnschr, n. 20 (1947).

(³³) R. CARUSI, XXIII Congr. Naz. di Idroclimatologia, Talassologia e Terapia fisica, Acqui-San Remo, giugno (1934).

[Gosio ⁽³⁴⁾] ed antipirina pure per vena [Lucherini ⁽³⁵⁾] nei casi in cui la scarsa tolleranza verso il salicilato ne comprometteva od impediva la continuativa somministrazione.

L'azione analgesica e risolvente dei pirazolici, del resto non sempre riscontrabile, fu riferita [Heppinger ⁽³⁶⁾, v. Bergmann ⁽³⁷⁾] alla loro attività « antifiussionaria » (anti-essudativa), per azione sulla parete dei capillari sanguiferi i quali, notoriamente, giuocano un ruolo importante nella m.r.

Ma dall'insieme però dei dati raccolti da altri AA. moderni [Coburn ⁽³⁰⁾] e da noi, nelle odierne ricerche, sembrerebbe di poter valorizzare ancora l'azione diretta del salicilato di sodio sulla m.r. umana; e ciò tenuto conto degli innegabili punti di contatto che è possibile rilevare tra i reperti istologici di tale malattia e quelli raccolti da tutta la serie di esperienze sopra ricordate, con cui è stato possibile dimostrare da un lato la notevole somiglianza delle lesioni della m.r. umana con quelle sperimentalmente ottenute nell'animale a mezzo di stato di ipersensibilità, e dall'altro il potere inibente del salicilato di sodio sull'eventuale insorgenza di questi ultimi quadri morbosi.

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

⁽³⁴⁾ R. GOSIO, Boll. Atti dell'Accademia Medica di Roma (1931).

⁽³⁵⁾ T. LUCHERINI, Clinica e Terapia delle Artropatie acute e croniche, Ed. « Universitas », Roma (1946).

⁽³⁶⁾ EPPINGER e coll., citato da Cecchi.

⁽³⁷⁾ G. BERGMANN, « Patologia funzionale », Istituto Sieroterapico Milanese (1941).