ISTITUTO «CARLO FORLANINI»
CLINICA TISIOLOGICA DELLA R. UNIVERSITÀ DI ROMA
DIRETTORE: PROF. E. MORELLI

C. CATTANEO e B. BASSANI

IMMUNIZZAZIONE SPERIMENTALE E CONTENUTO IN GLUCOSAMINA NEL SIERO DI SANGUE

Estratto da ANNALI DELL'ISTITUTO «CARLO FORLANINI»
Anno IV, N. 3-4, Pag. 170-174

ROMA
TIPOGRAFIA OPERAIA ROMANA
Via Emilio Morosini, 17

1940-XVIII

Istituto « Carlo Forlanini »
Clinica Tisiologica della R. Università di Roma
Direttore: Prof. E. Morelli

IMMUNIZZAZIONE SPERIMENTALE E CONTENUTO IN GLUCOSAMINA NEL SIERO DI SANGUE

di C. CATTANEO e B. BASSANI

In nostre ricerche precedenti (1) abbiamo studiato il comportamento quantitativo della glucosamina nel siero di sangue degli ammalati di tubercolosi. I risultati delle esperienze ci hanno dimostrato che il tasso di questo aminoesoso aumenta considerevolmente durante la malattia ed è in relazione con lo stato generale dell'ammalato: più gravi sono le condizioni generali più alto è il contenuto in glucosamina del siero di sangue.

Anche dalle recenti ricerche di Nilsson (2) e di West e Clarke (3), che determinarono la percentuale di glucosamina in ammalati di polmonite (2) ed in altre malattie infettive (tra cui due casi di tubercolosi) ed in numerose malattie maligne (carcinoma, leucemia, morbo di Hodghin, etc.) (3) risulta che in generale il tasso della glucosamina è superiore ai valori normali.

I risultati delle nostre precedenti esperienze, corredati anche da dati desunti dalla bibliografia, non ci permisero però di trarre delle conclusioni sicure, ma solo di prospettare delle ipotesi, sul probabile ruolo fisiologico rappresentato, durante il decorso di un'infezione, nel nostro caso particolare dell'infezione tubercolare, da questo amino-zucchero, che è uno dei componenti del così detto « zucchero proteico ».

Per contribuire ulteriormente alle nostre conoscenze su questo problema, abbiamo esteso le ricerche in un campo nuovo, rivolgendo la nostra attenzione al comportamento della glucosamina durante un trattamento immunizzante. Altri AA. (4) considerando l'importanza dei polisaccaridi batterici nei fenomeni immunitari avevano già prospettato l'ipotesi, che il complesso glucidico contenuto nel siero di sangue potesse essere in relazione con i fenomeni immunitari, tuttavia per la conferma di questa ipotesi, teoricamente interessante, mancavano fin qui dati sperimentali.

Parte sperimentale.

Abbiamo sperimentato su un lotto di 14 conigli del peso medio di kg. 2, a 10 dei quali abbiamo inoculato bacilli coli uccisi al calore, mentre i rimanenti sono stati tenuti come controllo. Tutti gli animali sono stati alimentati con la medesima dieta (pane di frumento, pane di crusca, avena, cavoli) e tenuti nelle ordinarie condizioni di stabulazione.

In ogni animale abbiamo determinato, prima del trattamento immunizzante, il contenuto in glucosamina del siero di sangue (per il metodo v. lavoro precedente) (1) ed il titolo delle agglutinine anticoli eventualmente presenti nel siero attivo. In nessun caso abbiamo trovato agglutinazione per diluizioni superiori a 1 : 50.

Agli animali in trattamento immunizzante sono state praticate 5 iniezioni (una ogni 8-10 giorni) di 1 cc. ciascuna di una emulsione contenente in 10 cc. di soluzione fisiologica, un'ansata (ansa calibrata del diametro interno di 4 mm.) di patina colturale di 24 h. su agar. I bacilli coli venivano uccisi tenendoli a 56° per 30'.

Cinque dei 10 animali trattati morirono tra la prima e la terza iniezione di bacilli coli. All'autopsia gli animali risultarono pressochè indenni da coccidiosi e si rilevò soltanto un versamento siero emorragico nel cavo addominale.

Nella tabella n. 1 sono riportate le percentuali di glucosamina ed il titolo agglutinante del siero di sangue, determinato prima, durante e dopo il trattamento immunizzante.

TABELLA I.

Andamento del tasso della glucosamina e del titolo agglutinante del siero di sangue in conigli trattati con bacilli Coli. (*)

Numero	Peso gr.	Glucosamina %	Titolo agglutinante			Glucosamina %	Titolo agglutinante			Glucosamina %	Titolo agglutinante			Peso gr.	Glucosamina %	Titolo agglutinante	Glucosamina %	Titolo agglutinante
	(12-10-1938)			13-10	22-10	(25-10-1938)		1-11	12-11	(15-11-1938)			20-11	(23-11-938)			(dopo 2 mesi dall'ultima iniez.)	
1	1.910	40	1/50			58	1/3000			60	1/5000			2.000	68	1/6000	42	1/50
2	2.070	38	1/50			53	1/2000			68	1/5000			2.130	70	1/5000	40	1/100
3	2.130	43	1/50			50	1/3000			70	1/5000			2.330	80	1/5000	39	1/50
4	2.000	42	1/50	1ª iniezione coli	2ª iniezione coli	48	1/2000	3ª iniezione coli	4ª iniezione coli	65	1/5000	5ª iniezione coli		1.815	68	1/5000	40	1/50
5	2.630	40	1/50			40	1/2000			60	1/5000			2.485	66	1/5000	—	—

(*) I valori della glucosamina sono espressi in mg. per 100 cc. di siero.

Dai dati riportati nella tabella n. 1 risulta che il contenuto in glucosamina aumenta in seguito al trattamento immunizzante, gradatamente con l'aumentare del titolo delle agglutinine e che, sospeso il trattamento per qualche tempo, ambedue i valori ritornano verso la norma.

Da un primo esame dei risultati delle esperienze parrebbe possibile intravedere una relazione tra immunizzazione con bacilli coli e tasso in glucosamina del siero di sangue. Questo comportamento, senza dubbio interessante, non dimostra però senz'altro che la glucosamina partecipa ai fenomeni immunitari, poichè altre cause secondarie, collegate tuttavia col trattamento immunizzante, potrebbero essere responsabili dell'aumento osservato. Per questo abbiamo eseguito una seconda serie di esperienze nelle quali abbiamo determinato il quantitativo in glucosamina ed il tasso delle agglutinine nel siero di sangue durante il trattamento immunizzante associato ad un trattamento con sostanze riducenti (iposolfito di sodio).

Abbiamo pensato di completare in questo modo le nostre ricerche basandoci sui risultati ottenuti precedentemente da CATTANEO e Coll. (MARIANI e MORELLINI) (5) sull'influenza di un trattamento opportuno con sostanze riducenti sopra alcune reazioni biologiche in vivo. È stato studiato infatti, in queste condizioni, il comportamento della reazione di GHEDINI-WEINBERG, dei fermenti protettivi nella tubercolosi polmonare umana e nella gravidanza, della produzione sperimentale delle agglutinine anticoli nel coniglio e sono i risultati ottenuti in queste ultime esperienze quelli che ci interessano per il

presente lavoro. Tali risultati hanno dimostrato che la somministrazione di iposolfito di sodio esalta la produzione delle agglutinine nei conigli trattati.

Credemmo quindi opportuno ripetere queste esperienze determinando contemporaneamente, dopo iniezioni di iposolfito di sodio, il contenuto in glucosamina ed il tasso delle agglutinine perchè ci sembrò logico pensare che se l'aumento della percentuale di glucosamina, già osservato, fosse stato in relazione con la comparsa in circolo degli anticorpi, il che in definitiva corrisponde ad una comparsa in circolo di nuove proteine, noi avremmo dovuto trovare insieme con una maggiore produzione di agglutinine anche un % maggiore di glucosamina.

I risultati ottenuti sono riportati nella tabella n. 2.

TABELLA II.

Andamento del tasso della glucosamina e del titolo agglutinante del siero di sangue in conigli trattati con bacilli coli e con iposolfito di sodio.

Numero	Peso gr. (15-12-1938)	Glucosamina % (15-12-1938)	Titolo agglutinante (15-12-1938)	23-12	30-12	9-1	17-1	24-2	Peso gr. (27-2-1939)	Glucosamina % (27-2-1939)	Titolo agglutinante (27-2-1939)	Trattamento
1	1.918	35	1/50						1.800	38	1/50	Iniezioni quotidiane di iposolfito di sodio, endovena, gr. 0,40.
2	2.115	41	1/50						2.050	40	1/50	
3	1.950	43	1/50						2.200	37	1/50	
4	1.800	38	1/50	1ª iniezione coli	2ª iniezione coli	3ª iniezione coli	4ª iniezione coli	5ª iniezione coli	2.100	41	1/50	
5	2.180	40	1/50						1.700	108	1/10000	Iniezioni quotidiane di iposolfito di sodio, endovena, gr. 0,40. Trattamento con bacilli coli
6	2.120	45	1/50						2.300	76	1/10000	
7	2.280	43	1/50						2.770	78	1/12000	
8	2.370	30	1/50						2.565	68	1/10000	
9	2.440	38	1/50						2.045	72	1/12000	
10	2.320	42	1/50						2.115	90	1/10000	
11	2.250	39	1/50						2.000	76	1/6000	Solo trattamento con bacilli coli.
12	1.940	40	1/50						1.850	72	1/5000	
13	2.080	41	1/50						2.200	85	1/5000	
14	2.120	44	1/50						1.950	68	1/5000	

Al termine dell'esperienza gli animali furono in parte sacrificati per l'esame autoptico. L'esame macroscopico degli organi non rivelò differenza alcuna tra gli animali immunizzati e quelli di controllo.

Da questa tabella risulta che il titolo agglutinante, come era già stato dimostrato (CATTANEO e MORELLINI), aumenta dopo la somministrazione di iposolfito di sodio, mentre la percentuale di glucosamina nel siero rimane praticamente invariata. Da queste esperienze sembra quindi che la glucosamina, componente dello « zucchero proteico », non sia in relazione con la produzione degli anticorpi.

Il fenomeno dell'aumento di questo amino-zucchero pare quindi non essere in relazione al fattore immunizzazione. Questo comportamento della glucosamina, che è lo stesso nelle più varie malattie, infettive o no, ed in un tratta-

mento immunizzante si può, probabilmente, interpretare come dovuto ad un'unica causa, che però presentemente sfugge ancora alle nostre osservazioni, Per questo abbiamo intenzione di continuare le ricerche, tenendo presente che lo « zucchero proteico », di cui la glucosamina è uno dei componenti, non si deve considerare come un prodotto intermedio del metabolismo degli idrati di carbonio, come ha dimostrato QUAGLIARIELLO (6) in un suo lavoro critico e di fondamentale importanza. Inoltre non trascureremo di prendere in considerazione anche l'ipotesi di WEST e CLARKE (3), secondo la quale il comportamento della glucosamina sarebbe in relazione con assorbimento di tessuto necrotico.

RIASSUNTO

Gli AA. hanno studiato il comportamento della glucosamina durante un trattamento immunizzante (produzione sperimentale di agglutinine anticoli) ed hanno osservato che, come in generale nelle malattie, il tasso della glucosamina nel siero di sangue è aumentato. Questo aumento però, secondo gli AA., non è in rapporto con la produzione degli anticorpi.

RÉSUMÉ

Les AA. ont etudié la façon de se comporter de la glucosamine durant un traitement immunisant (production expérimentale d'aglutinines anticoli) et ont observé que, comme en général dans les maladies, le taux de la glucosamine dans le sierum de sang est augmenté, cette augmentation toutefois, selon les AA., n'est pas en rapport avec la production des anticorps.

ZUSAMMENFASSUNG

Verff. untersuchten das Verhalten des Glucosamin im Laufe einer immunisierenden Behandlung (experimentelle Erzeugung von Anticol-Agglutinine) und beobachteten dass, wie in den Krankheiten im allgemeinen, der Gehalt des Glucosamin im Blutserum vermehrt ist. Nach Verff. steht diese Vermehrung jedoch nicht in Beziehung zur Erzeugung der Antikörper.

SUMMARY

The authors have studied the behaviour of the glucosamine during immunization treatment (experimental production of anticoli agglutinins), observing that, as in disease generally, the percentage of glucosamine in the blood is increased; they do not consider, however, that this increase is in relation to the production of antibodies.

RESUMEN

Los autores han estudiado el comportamiento de la glucosamina durante un tratamiento immunizante (produción esperimental de aglutininas anticoli) y han observado que, como en general en las enfermedads, la tasa de la glucosamina en el siero sanguineo se encuentra aumentado. Pero este aumento, seguan los autors, no esta en relación con la produción de los anticuerpos.

BIBLIOGRAFIA

1 BASSANI B., CATTANEO C. — « Ann. Ist. C. Forlanini », 1938, **2**, 901,
2 NILSSON I. — « Biochem Z. », 1936, **285**, 386 ; Id. 1937, **291**, 245.
3 WEST R., CLARKE D. H. — « J. Clin. Invest. », 1938, **17**, 173.
4 RIMINGTON C. — « Ann. Rev. Biochem. », 1936, **5**, 117.
5 CATTANEO C. — « Ann. Ist. C. Forlanini », 1938, **2**, 332 ; CATTANEO C. e MARIANI B. — « Arch. Sci. Biol. », 1938, **24**, 139 ; ID. — « Ann. Ist. C. Forlanini », 1939, **3**, 319 ; CATTANEO C. e MORELLINI M. — « Boll. Ist. Sier. Milanese », 1939, **18**, 52 ; MARIANI B. e MINGAZZINI U. — « Ann. Ost. e Gin. » (in corso di stampa).
6 QUAGLIARIELLO G. — « Arch. Sci. Biol. », 1928, **11**, 106 ; ID. — « Ann. Clin. e Terap. », 1928, **5**, 3,