

M. B 70/10

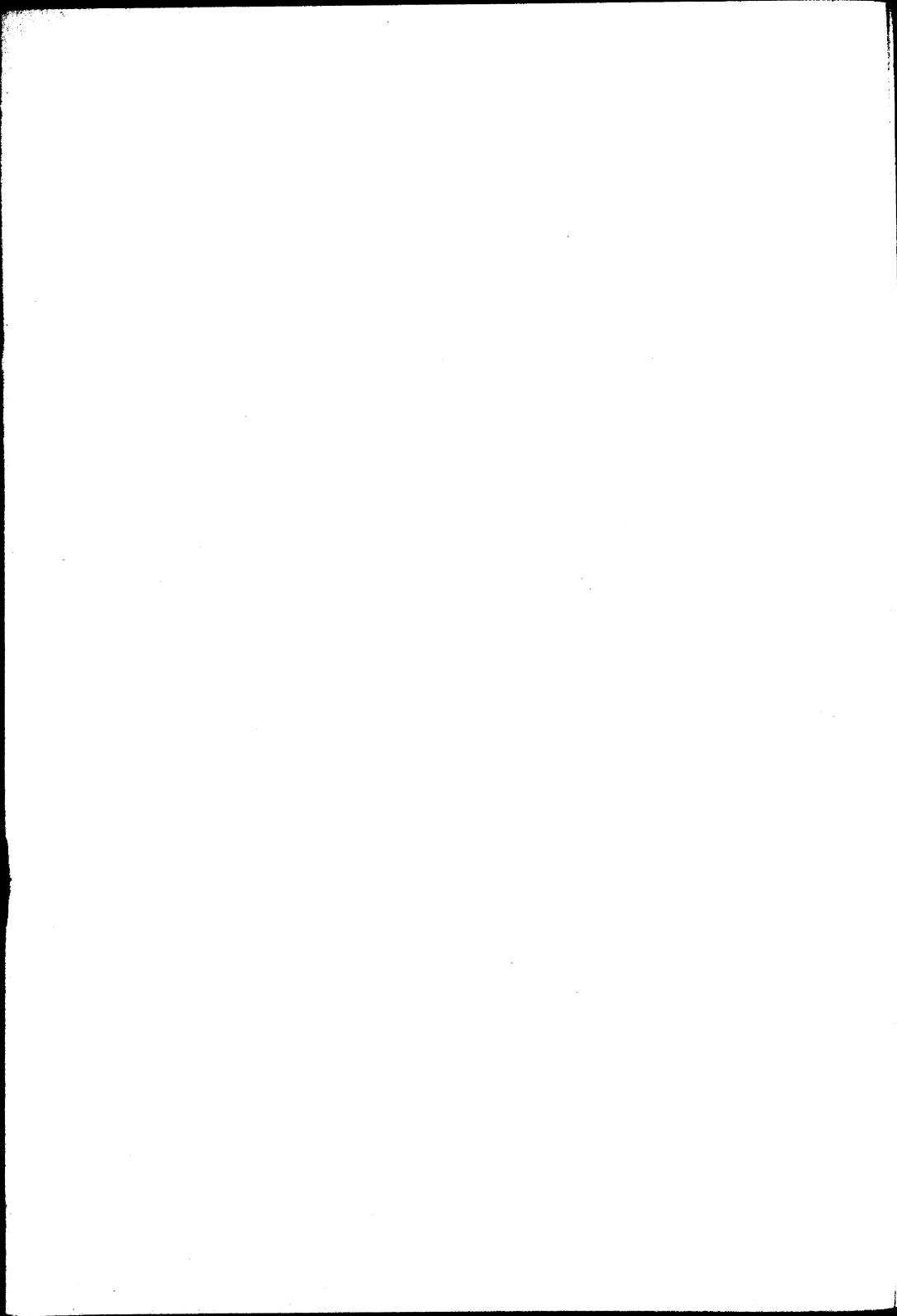
Esemplare fuori commercio per  
la distribuzione agli effetti di  
legge.

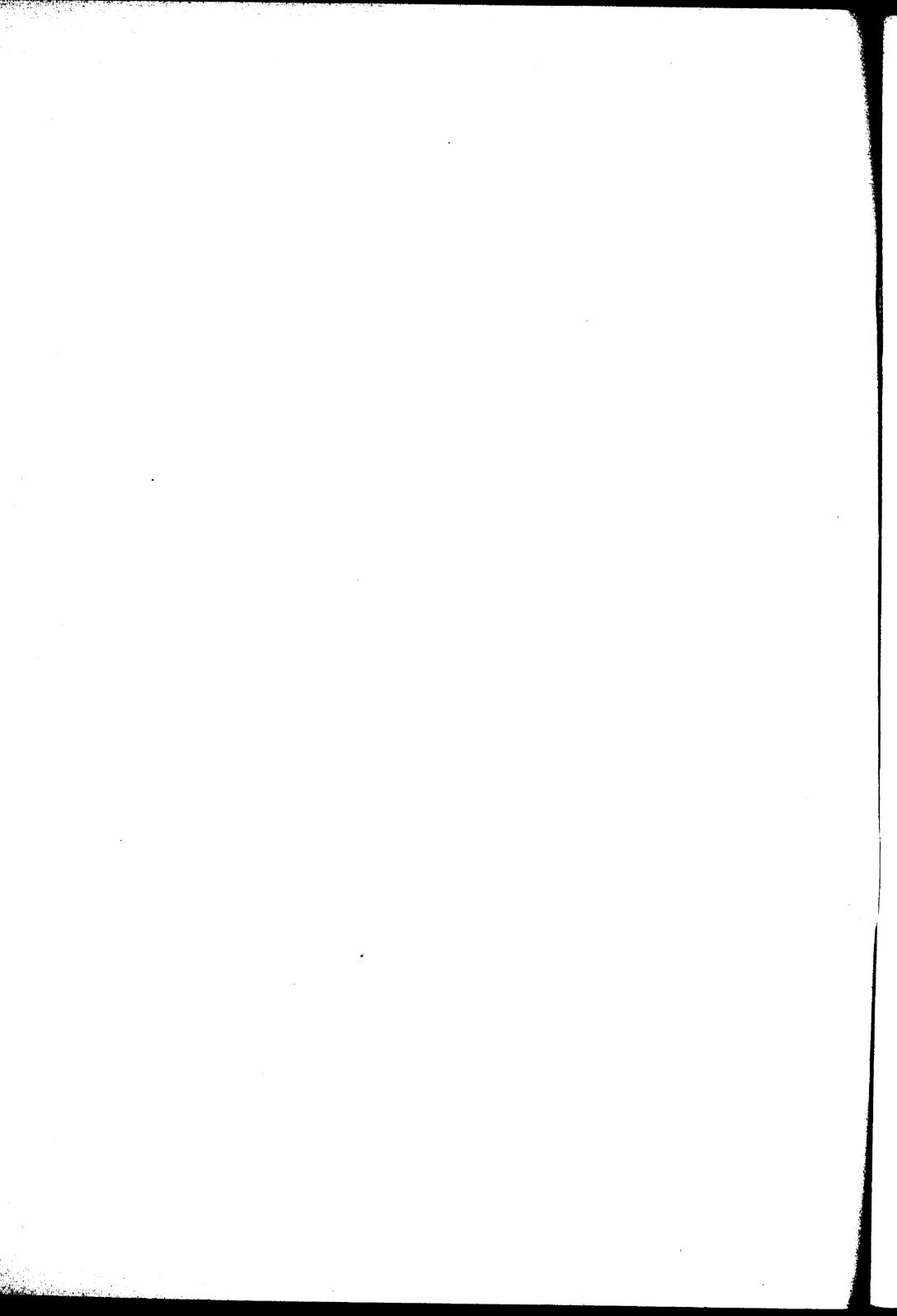
39

DOTT. D. CONTI - DOTT. G. GIBERTINI



Avvelenamento acuto da istamina in  
due soggetti trattati con estratto epa-  
tico. Le cause della eventuale presenza  
di quantità tossiche di istamina nei  
preparati iniettabili di fegato





DOTT. D. CONTI - DOTT. G. GIBERTINI

---

Avvelenamento acuto da istamina in  
due soggetti trattati con estratto epa-  
tico. Le cause della eventuale presenza  
di quantità tossiche di istamina nei  
preparati iniettabili di fegato



Dott. DOMENICO CONTI  
ASS. DELLA CLIN. NEUROLOGICA

Dott. GIUSEPPE GIBERTINI (\*)  
ASS. DELL'IST. DI PAT. CHIRURGICA

AVVELENAMENTO ACUTO DA ISTAMINA  
IN DUE SOGGETTI TRATTATI CON  
ESTRATTO EPATICO. LE CAUSE DELLA  
EVENTUALE PRESENZA DI QUANTITÀ  
TOSSICHE DI ISTAMINA NEI PREPARATI  
INIETTABILI DI FEGATO

PREMESSE.

**N**ON è facile che si presenti nell'uomo un avvelenamento acuto da istamina. A noi è capitato di osservare una sintomatologia imponente con il quadro caratteristico della manifestazione tossica da istamina in due soggetti che avevano appena subita l'iniezione sottocutanea di un preparato di fegato. La sintomatologia dimostrata dai nostri pazienti deponeva per un effetto di origine tipicamente istaminica e non per uno shock anafilattico in generale. Infatti una serie di ricerche biologiche, tutte concordanti, portava a identificare nel preparato epatico iniettato la presenza di istamina in quantità nettamente tossica (concentrazione corrispondente a 10 mg. di bicloridrato di istamina per fiala), tale da giustificare a pieno i gravi fenomeni di avvelenamento osservati. Una dimostrazione chimico-cristallografica della presenza di istamina in forte

(\*) Le osservazioni cliniche spettano al dott. Conti, le ricerche biologiche e chimiche, le osservazioni critiche e l'organizzazione generale del lavoro spettano al dott. Gibertini.

quantità, dava ulteriore conferma ai risultati dei dosaggi biologici. Ma quali potevano essere le cause della presenza di quantità tossica di istamina nell'estratto epatico adoperato? Il problema veniva ad assumere un interesse di più vasta portata, dato il largo uso che oggi si fa di estratti epatici per iniezione, e data la gravità delle conseguenze che avrebbe portato con sé il ripetersi di fenomeni analoghi a quelli occorsi alla nostra osservazione. Ricerche istituite allo scopo ci hanno permesso di stabilire come in un fegato, che sia lasciato putrefare, venga gradatamente aumentando il contenuto in istamina. Di qui: la illazione probabile che l'estratto epatico, iniettato nei nostri pazienti, fosse stato preparato con fegato putrefatto.

Esporremo con qualche dettaglio i risultati delle nostre osservazioni e delle nostre ricerche. In un primo tempo, descriveremo i caratteri del quadro d'avvelenamento osservato nei nostri pazienti e i rilievi clinici che abbiamo potuto eseguire, pure durante lo svolgersi di una sintomatologia assai tumultuosa. Subito dopo diremo delle ricerche biologiche e chimiche da noi istituite per identificare e dosare la istamina nel preparato di fegato in causa. Tali ricerche verranno riferite anche perchè esse rappresentano, ci sembra, uno schema completo per arrivare a un sicuro dosaggio della istamina. Da ultimo studieremo le cause probabili per le quali un estratto epatico possa tanto arricchirsi di istamina da doversi considerare come pericoloso. E prospetteremo inoltre le deduzioni pratiche atte ad evitare la eventualità che, volendo sfruttare l'azione curatrice di un preparato iniettabile di fegato, si incorra nel danno di ottenere un effetto generale non desiderato, alle volte grave o addirittura letale: sempre, spiacevole.

I° AVVELENAMENTO ISTAMINICO ACUTO IN DUE SOGGETTI TRATTATI PER VIA IPODERMICA CON UN ESTRATTO EPATICO.

In due pazienti in cura ospedaliera si era da qualche tempo iniziato un trattamento con del « Campolon » per via ipodermica e non si era mai notato alcun segno di intolleranza. L'uno di tali pazienti, G. M., fu Luigi, da Cavezzo Emilia, di 53 anni, era affetto da sclerosi laterale amiotrofica e da artrite deformante, ed era notevol-

mente anemizzato. L'altra, una bambina, P. I. di Guido, da Mirandola, di anni 10, soffriva invece di idrocefalo e di un lieve stato di anemia. Ad ogni modo la forma morbosa dell'individuo adulto sembra che non potesse interferire in alcun modo con il quadro tossico che si sarebbe dovuto manifestare più tardi, in seguito alla iniezione di un preparato di fegato di altra Casa. Per questo non ci diffonderemo a descrivere i caratteri clinici della malattia e ricorderemo solo che il « Campolon » veniva iniettato per curare l'anemia e come ricostituente in generale.

Anche nella bambina il « Campolon » veniva dato come antianemico e come ricostituente.

Essendo rimasti privi di « Campolon », si pensò di sostituirlo con un preparato di fegato di un'altra tra le case più accreditate (\*), e si diede la preferenza alla preparazione più concentrata, in fiale da 5 cc.

Subito dopo praticata l'iniezione, insorsero nei due soggetti i segni di una violenta reazione generale.

Descriveremo prima i fenomeni presentatisi nel soggetto adulto.

Ben presto dopo la fine dell'iniezione il paziente avvertiva un senso diffuso di calore: obiettivamente si poteva notare che la cute si coloriva di roseo fino a raggiungere, nel tempo di circa 3 minuti, un intensissimo colore rosso su tutto l'ambito corporeo. Fortemente iniettata era pure la mucosa congiuntivale, così che anche la sclera appariva di colore rosso. In sede di iniezione si osservava una cospicua infiltrazione edematosa. Mano a mano che si stabilivano i fenomeni congestizi descritti, la respirazione si faceva dispnoica, il polso diveniva assai piccolo, frequentissimo (145-150 battiti al minuto). La pressione omerale (determinata ascoltatoriamente) dimostrava una intensa caduta della massima e soprattutto della minima con un cospicuo aumento dell'ampiezza oscillatoria. Mentre comunemente la pressione del nostro paziente dava una massima di 135, e una minima di 75 mm. di Hg, il valore della massima misurato durante la crisi (circa 20 minuti dopo l'iniezione) era di 90 mm.

(\*) Ho desiderato che non fosse pubblicato il nome della casa.

Ho tenuto conto anche del fatto che, in seguito alla mia segnalazione, tutte le scatole del prodotto incriminato sono state telegraficamente ritirate dai depositi e dalle farmacie Trabucchi.

di Hg, e la minima era tanto bassa che non si riusciva a determinarla. Il paziente si diceva stordito e si lamentava di un lieve senso di soffocamento e di una estrema astenia.

Nella bambina, forse anche in causa del preesistente idrocefalo, e in rapporto con il fatto che la quantità di estratto epatico iniettata, tenendo conto della minore massa corporea, veniva ad essere proporzionalmente assai più cospicua, la sintomatologia si presentò fin da principio anche più grave che nell'individuo adulto. Perfettamente analoghi furono i caratteri del senso immediato di calore e del rosso vivo comparso su tutto il corpo. Ma nella bambina il polso ben presto non si sentì più. Si ricorse allora subito a una iniezione di g. 0,10 di cardiazolo, dopo la quale le condizioni generali si ripresero e vennero, mano a mano, migliorando.

Nell'adulto invece una vigile, continua assistenza e il lentissimo ma progressivo diminuire di intensità del quadro tossico (dopo un'ora i segni più salienti della sintomatologia cominciavano già ad attenuarsi e dopo 4 ore si potevano considerare del tutto esauriti) ci ha dispensato dall'uso di una terapia d'urgenza. Il decorso dell'avvelenamento si può quindi, considerare più schietto e meno deformato che nel caso della bambina.

L'estrema dilatazione capillare, la caduta pressoria, soprattutto a carico della minima, l'ambascia del respiro ci sembrarono subito tipici, chiari segni di intossicazione acuta da istamina. Pensammo spontaneamente alla istamina non tanto perchè il quadro d'avvelenamento ne sia frequente così da essere comunemente conosciuto, ma perchè quello che sappiamo sulla attività farmacologica della istamina ci avrebbe dovuto fare immaginare, anche *a priori*, che il decorso di un avvelenamento da istamina dovesse seguire, nelle sue linee schematiche, il quadro verificatosi nei nostri ammalati.

Del resto l'intenso arrossamento che si manifestò su tutto il corpo, subito dopo l'iniezione di fegato, ci apparve come un quadro esaltato di quel rossore che si nota, soprattutto alla faccia, quando si iniettano alcuni decimi di milligrammo di istamina per le prove di funzionalità gastrica.

Un esame attento della letteratura ci ha permesso di ritrovare descritti altri casi di avvelenamento da istamina, tutti decorsi con

sintomatologia analoga a quella presentata dai nostri pazienti. Ne abbiamo raccolti i dati essenziali della sintomatologia clinica, sia perchè non esiste alcun lavoro d'insieme in argomento, sia per confrontare i sintomi occorsi alla nostra osservazione con quelli descritti in casi analoghi da altri autori.

I fenomeni generali della intossicazione acuta da istamina sono stati osservati e descritti anzitutto da ostetrici, una trentina di anni fa.

Si pensava allora che la istamina rappresentasse il principio attivo più importante della segale cornuta e quindi si era cercato di sostituire alla droga quello che si riteneva essere il principio attivo puro. Si era notato che, per avere un sicuro effetto dell'istamina sull'utero, occorreva iniettarne qualche milligrammo, ma gli effetti generali che si ottenevano erano tali da sconsigliarne l'uso. Un primo impiego dell'istamina in ostetricia è stato fatto da Koch (16) il quale ne iniettò 0,5-1 mg., direttamente nella porzio, in casi di gravi emorragie uterine. Ottenne così una intensa contrattura dell'utero, della durata di più ore, ma osservò anche degli altri intensi spiacevoli fenomeni generali. In un caso, dopo l'iniezione di 1 mg. di istamina, osservò un enorme aumento di frequenza del polso, un eritema rosso scarlatto che si estendeva a tutto il corpo, dei violenti dolori di capo in sede occipitale, dei formicolii alla faccia e alle mani. Per interpretare una sintomatologia tanto violenta, egli pensava che il liquido fosse stato iniettato in corrispondenza del così detto ganglio paracervicale uterino e avesse determinato così la intensa reazione nervosa generale. Molto più logico è invece pensare che il liquido, rapidamente assorbito da una zona riccamente vascolarizzata, o spinto direttamente in un vaso, abbia potuto dare una reazione generale di intensità analoga a quella che si potrebbe ottenere iniettando la istamina per via endovenosa.

Lo stesso Koch (16) sperimentando più tardi la istamina per iniezione sottocutanea *ante partum* o in puerperio, in dose di 0,5-1 mg., ebbe ancora ad osservare reazioni generali notevoli (rossore, tachicardia, dolori di capo) ma di intensità assai minore che quando praticava le iniezioni di istamina nel tessuto uterino. Decisamente contrario all'uso ostetrico dell'istamina si dimostrò fin da principio il Kehrer (14) perchè ebbe ad osservare dei fatti tossici generali

imponenti: intensa cianosi, arresti del respiro, fatti convulsivi, perdita di coscienza ecc. L'illustre ginecologo di Dresda non ci dice tuttavia quali dosi di istamina avesse adoperato. Lo Jaeger (13) per avere un effetto di eccitamento ben sicuro delle contrazioni uterine, dovette giungere a iniettare dosi di 8 mg. di istamina. Ebbe spesso dei fenomeni di notevole reazione generale: rossore diffuso, spesso con carattere di vero eritema; dolori di capo; tachicardia; formicolii; vomito. Ma il fatto stesso dell'altissimo dosaggio a cui dovette giungere per ottenere la eccitazione dell'utero, l'incostanza di fenomeni generali imponenti, la caduta relativamente lieve della pressione arteriosa massima (20-30 mm. di Hg) pur con le quantità di istamina più forti, ci lasciano qualche dubbio sulla effettiva entità delle dosi impiegate dallo Jaeger. Più tardi lo stesso Jaeger (13) ad evitare gli inconvenienti causati dalla istamina propose di limitarne la dose a 0,5 mg. e di associarvi 2 mg. di tiramina. Tale associazione non doveva avere fortuna, nonostante che per ottenere l'effetto desiderato della eccitazione uterina, si fosse in un tempo ulteriore aumentata la proporzione della istamina rispetto alla tiramina. Sebbene associata con la tiramina, la istamina presentava sempre l'inconveniente fondamentale di essere sicuramente attiva solo per le dosi capaci di fare un quadro tossico generale. Frattanto la scoperta della pituitrina da un lato e degli alcaloidi attivi della segale cornuta dall'altro contribuirono a fare abbandonare o quasi la istamina nell'impiego ostetrico. Anche il suggerimento relativamente recente di Bourne e Burn (5) di associare l'istamina (2 mg.) all'ergotossina non doveva avere alcun seguito. Scorrendo la letteratura ostetrica, susseguente a quella di cui ci siamo occupati, non si trovano più descritti casi di intossicazione istaminica.

Invece, un certo interesse per le reazioni generali che può dare l'istamina si è venuto manifestando quando, in seguito alle indicazioni di Carnot, Coskowsky e Libert (6), la istamina, come sostanza tipicamente eccitatrice della secrezione gastrica, cominciò ad essere adoperata nella diagnostica funzionale dello stomaco. Già gli autori ricordati, dopo l'impiego di istamina, in dosi varianti tra 0,75 e 1,5 mg., per via sottocutanea, notarono: rossore al volto, più o meno intenso, e accompagnato da senso di calore; spesso malessere e cefalea; una tachicardia alle volte notevole; un modico

abbassamento della pressione sanguigna, più evidente a carico della minima (\*).

Ad evitare gli inconvenienti dell'effetto tossico generale, è stato rilevato (12) che una intensa azione secretoria da parte dello stomaco si può avere anche con l'iniezione di un quarto di mg. di istamina, mentre con tale dose sono ridotte al minimo le modificazioni del polso e della pressione. Oggi si dà la preferenza a tali piccole dosi.

Tuttavia, in seguito alla iniezione soltanto di 0,8 mg. di istamina fatta a scopo diagnostico, in presenza di una marcata ipocloridria, è stato descritto un caso di morte (18). Il malato morì mezz'ora dopo che era stata fatta l'iniezione per insufficienza cardiaca, nel corso di un tipico shock istaminico. All'autopsia si trovarono i segni di un'aortite luetica.

Questo è l'unico caso di morte da istamina che abbiamo trovato descritto. Data la quantità relativamente piccola dell'istamina iniettata è probabile che le lesioni vascolari in atto abbiano contribuito all'esito letale.

Dalle esperienze di Schenk (24), che si potrebbero definire di « tossicologia sperimentale », eseguite, purtroppo, con deprecabile audacia, sull'uomo, risulta che nell'arteriosclerosi periferica lo shock circolatorio da istamina può essere particolarmente notevole. In un caso, dopo iniettati 4 mg. di istamina la pressione si abbassò da 197-100 a 80-45 mm. di Hg. Lo Schenk discute se l'istamina provochi nell'uomo una contrazione delle coronarie. In un caso in cui precedentemente non era rilevabile nè ascoltatoriamente nè elettrocardiograficamente alcuna compromissione coronarica, si ebbe, dopo iniezione di 8 mg. di istamina, una aritmia cardiaca estremamente forte, della durata di una decina di minuti, e caratterizzata da gruppi di extrasistoli ventricolari.

Lo Schenk notava sempre una intensa reazione cardiaca di fronte alla istamina in notevole quantità: il primo tono acquistava un suono alto su tutta l'area cardiaca, mentre il secondo tono non veniva rilevato alla ascoltazione neppure sulla polmonare.

(\* In senso contrario di tutti gli altri autori [vedi anche Kisch (15)], lo Zara (30) troverebbe scarsamente influenzata dalla istamina la pressione minima in confronto che la massima.

*AVVELENAMENTO ACUTO  
ECC.*

Nei riguardi degli altri caratteri della tossicosi generale osservati da Schenk per effetto della istamina, ricordiamo la solita estrema dilatazione capillare, e, per le dosi maggiori (6-8 mg.), anche una intensissima dilatazione dei vasi congiuntivali. Spesso era accusato un violento, alle volte « insopportabile » dolore al capo in sede occipitale. Frequenti apparivano le alterazioni del respiro con dispnea inspiratoria. Lo stomaco per le dosi forti di istamina si dimostrava allo schermo radiologico in istato di contrazione totale ipertonica.

Una stretta simiglianza esiste dunque tra la sintomatologia presentata dai nostri pazienti e quella descritta dai vari autori in casi di avvelenamento di istamina. Una simiglianza così stretta che avrebbe potuto da sola autorizzarci a far diagnosi di avvelenamento da istamina e a prevedere con qualche probabilità anche la dose di istamina iniettata. Avevamo infatti, oltre alla vasodilatazione su tutto il corpo, un intenso grado di iniezione dei vasi congiuntivali e di chemosi della congiuntiva: fatto che insorgerebbe secondo Schenk soltanto con le dosi molto alte, da 6 a 8 mg. Ricordiamo, inoltre, nell'individuo adulto, la accelerazione intensa dei battiti cardiaci e la caduta della minima a valori così bassi da non poter essere determinata; nella bambina, la scomparsa del polso. Tutti sintomi che stanno per un dosaggio molto elevato di istamina. Tra i segni classici da avvelenamento istaminico presenti nei nostri ammalati ricordiamo ancora la dispnea a tipo inspiratorio (\*). Mancavano invece la cefalea, la nausea e il vomito descritti da altri autori, come reperto frequente ma non costante. Un sintomo invece che dagli altri autori non è stato rilevato e che nel caso del nostro paziente adulto veniva lamentato con molta insistenza, era il senso di astenia. Una astenia così notevole che il malato si sentiva incapace di qualsiasi movimento.

(\*) Vogliamo accennare, a titolo quasi di curiosità, all'osservazione fatta da Kisch (15) il quale in tre pazienti con alterazioni respiratorie a tipo Cheine Stockes, vide ripristinarsi un tipo di respiro normale dopo iniezione 1/2 mg. di istamina.

Se, come abbiamo detto, l'osservazione dei fenomeni clinici causati dall'estratto da noi posto in uso, poteva farci presumere la presenza in esso di istamina e di istamina in quantità notevole, bisognava tuttavia dare al nostro sospetto la prova di una documentazione sicura. La abbiamo ottenuta attraverso una serie di ricerche: tutte a risultato concordante. Le descriveremo separatamente:

a) *Dosaggio quantitativo sull'intestino atropinizzato di cavia.*

Il liquido delle fiale in esame appare perfettamente limpido, di colore bruno chiaro, odora intensamente di fenolo (\*). Un saggio preliminare dimostrò che l'estratto epatico in esame, anche diluito migliaia di volte, rimaneva attivo sull'intestino atropinizzato di cavia. Si poteva quindi, data la diluizione a cui si sarebbe dovuto sottoporre, saggiare il liquido in esame direttamente nella sua attività sull'intestino isolato, senza procedere prima a quella idrolisi acida e a quella estrazione alcoolica a caldo che, nei metodi di Barsoum e Gaddum (2) e di Code (7), hanno lo scopo di eliminare molte sostanze capaci di interferire con l'istamina, nel dosaggio biologico di questa. Nel nostro caso, eliminata la possibile interferenza delle sostanze coliniche perchè si agiva su intestino atropinizzato, si poteva considerare come del tutto improbabile che l'estratto di fegato contenesse particolari sostanze (come acido adenosin-fosforico, callicreina, alcuni aminoacidi, proteosi, sali inorganici ecc.) in tali quantità che, alle diluizioni grandissime a cui si sarebbe dovuto adoperare l'estratto, fossero capaci di stimolare l'intestino o modificarne la reattività alla istamina. È noto infatti che le sostanze ricordate potrebbero agire sull'intestino nell'uno e nell'altro senso, soltanto a concentrazioni notevoli.

(\*) Un'analisi chimica quantitativa per il fenolo, eseguita con il metodo della bromazione e determinazione successiva del bromo legatosi all'anello benzenico, per differenza, mediante esame iodometrico dello jodio spostato dal bromo in eccesso (25) ha dimostrato nel liquido in esame la presenza di fenolo in quantità dell'1,1 %.

Ci sembra quindi di aderire a un sano criterio sperimentale affermando che un trattamento preventivo secondo Code del liquido da sottoporre al nostro esame, senza portare ad alcun vantaggio effettivo, ci avrebbe soltanto condotto al rischio di perdere nei processi di estrazione qualche, sia pur piccola, quantità della istamina presente.

Riportiamo nel grafico n. 1 il risultato di un dosaggio biologico eseguito direttamente con l'estratto epatico opportunamente diluito. Per quanto riguarda la tecnica del dosaggio biologico ricor-

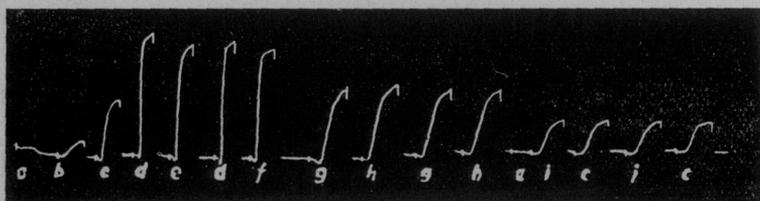


GRAFICO N. 1.

In a: 1 cc. di cloridrato di acetilcolina  $1/10.000.000$ : si fa in modo cioè che nei 10 cc. di Ringer in cui è immerso l'intestino si vengano a trovare 0,1 gamma di cloridrato di acetilcolina.

In b: 1 cc. di una soluzione contenente 0,2 gamma di bicloridrato di istamina (\*) (si aggiunge cioè 1 cc di una soluzione di istamina  $1/5.000.000$ ). Tutte le altre dizioni hanno valore analogo.

In c: 1 gamma di istamina.

In d: 1 cc. dell'estratto di fegato diluito a  $1/100$  con Ringer.

In e: 10 gamma di istamina.

In f: 5 gamma di istamina. Dopo f, si lascia un po' a riposo l'intestino.

Le contrazioni d ed f non si prestano per un dosaggio quantitativo dell'istamina nell'estratto di fegato perchè si tratta di contrazioni massimali.

In g: 1 cc. dell'estratto di fegato diluito  $1/1000$ .

In h: 2 gamma di istamina.

In i: 1 cc. dell'estratto di fegato diluito  $1/2000$ .

*Ammettendo che le reazioni g ed h siano identiche, ammettendo cioè che 1 cc. dell'estratto di fegato diluito  $1/1000$  abbia la stessa attività che 2 gamma di istamina, si verrebbe a calcolare per l'estratto di fegato non diluito un contenuto di 2 mg. di istamina per cc.*

*L'ultima parte del grafico conferma lo stesso dosaggio.*

(\*) In tutto il corso del lavoro quando si parla di istamina si intende sempre parlare di bicloridrato di istamina.

deremo di avere utilizzato la attrezzatura di Zamboni (29) per saggi su organi isolati. L'intestino di cavia venne mantenuto a 35° in un bagno di Ringer contenente solfato di atropina in proporzione di 1/50.000.000. L'attività sull'intestino delle diverse soluzioni venne saggiata sostituendo un cc. di queste a uno dei 10 cc. del liquido di Ringer in cui era immerso l'intestino.

Come appare dal grafico n. 1 e come è stato confermato da numerose altre prove, l'estratto di fegato da noi utilizzato possedeva per ogni cc. una attività corrispondente a quella di 2 mg. di istamina. Per ogni fiala cioè da 5 cc. si poteva ammettere una attività istaminica pari a quella di 10 mg. di bicloridrato di istamina.

*b) Azione del fermento istaminasico sull'estratto di fegato in esame.*

Per documentare maggiormente l'identità della sostanza attiva, dosata come istamina, ne abbiamo voluto studiare il comportamento di fronte al fermento istaminasico. Le prove sono state fatte nella maniera seguente. Un cc. dell'estratto epatico è stato diluito fino a 100 cc. con Ringer. Tale soluzione è stata divisa in due parti uguali entro due bevute. Le due bevute furono messe in termostato a 38° e ivi lasciate per 24 ore facendo gorgogliare lentamente in ciascuna di esse dell'ossigeno. Al liquido di una bevuta è stato aggiunto il contenuto di due fiale di « Torantil » (\*). L'altro liquido è stato lasciato di controllo per osservare se, anche in assenza del fermento istaminasico, ne potesse venire a variare il contenuto in istamina. Un altro controllo venne allestito diluendo in 50 cc. di Ringer 1 cc. di una soluzione fatta sciogliendo in acqua (contenente fenolo al 0,55 %) del bicloridrato di istamina in proporzione dell'1‰. Anche tali 50 cc. furono lasciati in termostato a 38° per 24 ore in presenza di un lento gorgoglio di C<sub>2</sub>, dopo aver aggiunte 2 unità di Torantil. La quantità di istamina veniva quindi a trovarsi in questa prova di controllo alla stessa concentrazione di quella calcolata per la prova con estratto di fegato, identica era pure la concentrazione della istaminasi, e identico abbiamo curato che fosse il con-

(\*) Una fiala di « Torantil » contiene una unità istaminasica, cioè una quantità di fermento capace di scendere a 38°, in 24<sup>h</sup>, un mg. di istamina.

tenuto in fenolo nella eventualità che tale sostanza potesse agire sul fermento.

Il risultato di questa esperienza (quale risulta dal grafico n. 2) è stato quanto mai dimostrativo. La intensità della scissione operata dal fermento nella prova fatta con estratto epatico è risultata presso a poco pari a quella che nella prova fatta con istamina

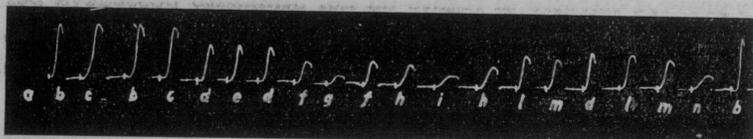


GRAFICO N. 2.

Le singole dizioni hanno un significato analogo a quelle del grafico n. 1. Sebbene il tratto di intestino fosse assai poco sensibile, si è potuto utilizzare ugualmente per il dosaggio, dato che la sua reattività, se pur scarsa, si mantenne sufficientemente costante.

In a: 25 gamma di istamina.

In b: 20 gamma di istamina.

In c: 1 cc. dell'estratto epatico 1:100 lasciato in termostato senza fermento.

In d: 10 gamma di istamina.

In e: 1 cc. del liquido saggiato in « c » e diluito a metà in Ringer.

In f: 1 cc. dell'estratto epatico 1:100 lasciato in termostato con « Torantil ».

In g: 2 gamma di istamina.

In h: 1 cc. della soluz. di istam. 1/50.000 in Ringer lasciata in termostato con « Torantil ».

In i: 2,5 gamma di istamina.

In l: 2 cc. del liquido fatto agire in f.

In m: 2 cc del liquido fatto agire in h.

In n: 5 gamma di istamina.

*Se si ammette che c sia uguale a b e che cioè l'estratto epatico diluito 1:100 lasciato in termostato senza fermento posseda un contenuto istaminico corrispondente a 20 gamma per cc., si può calcolare per l'estratto non diluito una concentrazione di 2 mg. di istamina per cc.: quindi il contenuto istaminico originale non sarebbe andato perduto nella prova fatta in assenza di istaminasi.*

*Se si ammette che l, m, d, siano presso a poco uguali fra di loro, si può calcolare che il contenuto in istamina dei liquidi posti a contatto con il fermento, si sia ridotto da 25 a 5 gamma: un valore cioè corrispondente circa alla quarta parte del valore iniziale.*

*Il fatto che la contrazione m sia un poco inferiore rispetto alle contrazioni d ed l denoterebbe una qualche maggiore attività della istaminasi nelle prove fatte sull'istamina pura: ma si tratta di differenza appena apprezzabile e che non infirma certo il significato della esperienza.*

pura (\*). In assenza del fermento, la concentrazione istaminica è rimasta pressochè imm modificata.

*AVVELENA-  
MENTO ACUTO  
ECC.*

*c) Dose letale per la cavia dell'estratto di fegato.*

Se come risulta dalle esperienze precedenti, l'estratto di fegato da noi utilizzato possedeva un contenuto corrispondente a 2 mg. di bicloridrato di istamina per cc., esso doveva dare in determinate piccole quantità, uno shock mortale a tipo istaminico se iniettato per via endovenosa nella cavia.

La dose minima letale determinata nella cavia ha corrisposto in maniera precisa alla dose prevista.

Una lunga serie di esperienze eseguite nel nostro laboratorio (27) aveva dimostrato che 0,5 mg. di bicloridrato di istamina iniettati per via endovenosa rappresentano la dose minima letale calcolata per kg. di cavia. L'iniezione va fatta abbastanza rapidamente entro la vena di una zampa. Non ha molta importanza il volume del liquido in cui la istamina è disciolta. Nel nostro caso se 1 cc. di estratto epatico possedeva l'attività di 2 mg. di istamina, doveva bastare un quarto di cc. di esso per kg. di cavia per provocarne la morte. Come abbiamo detto e come risulta dalla tabella che riproduciamo, la previsione si è avverata esattamente: un quarto di cc. dell'estratto era la dose minima letale prevista; e un quarto di cc. di esso si dimostrò essere la dose effettivamente efficace.

(\*) Si potrebbe osservare che la scissione istaminica determinata dal fermento è stata inferiore a quello che si avrebbe dovuto prevedere in base alla presunta attività istaminica del « Torantil ». Può darsi che si sia trattato di un'inibizione causata dal fenolo presente in concentrazione di 1 : 9050. Ma più probabile è ammettere una attività effettiva per il « Torantil » inferiore di circa 4 volte a quella asserita.

TABELLA

Numero delle esperienze	Peso della cavia in gr.	Quantità in cc. per kg. dell'estratto di fegato originale iniettato	Diluzione dell'estratto di fegato		Quantità effettiva di liquido iniettato per via endovenosa	Comportamento dell'animale
			con Ringer	con soluzione di istidina all'1 0/0		
1	620	1	1/2	—	1,24	muore in 5 m' 58''
2	680	0,5	1/2	—	0,68	» in 5 m'
3	720	0,5	1/2	—	0,72	» in 2 m' 30'' (+)
4	640	0,25	1/4	—	0,64	» in 1 ora
5	410	0,25	1/4	—	0,40	» in 20'
6	355	0,22	—	1/10	0,78	shock grave — non morte
7	340	0,22	—	1/10	0,74	shock grave — non morte
8	555	0,25 (*)	—	1/10	1,27	shock grave — non morte

(\*) Questa esperienza è servita per rilevare il tracciato del respiro (v. graf. n. 5). Si tratta di una soluzione contenente 2 mg. di istamina per cc.

La concordanza del risultato con la previsione ci documentava ancora una volta che la morte provocata nella cavia dall'iniezione dell'estratto era dovuta alla istamina in esso presente. Del resto a eliminare il sospetto che in generale gli estratti di fegato come tali contengano delle sostanze tossiche per la cavia, ricorderemo che un controllo fatto con un estratto epatico di notevole concentrazione (Hepracton) ci ha dimostrato che un volume totale di questo 16 volte maggiore di quello che per il nostro estratto era già sufficiente a dare

la morte nella cavia, provocava invece soltanto uno stato passeggero di sofferenza dell'animale (arruffamento del pelo, scarsa reazione agli stimoli ecc.). La morte della cavia trattata con l'estratto di fegato da noi esaminato seguì sempre a un netto quadro di shock istaminico. Nella figura n. 3 è riprodotto un tracciato di respiro, che ci dimostra il tipico arresto respiratorio da spasmo bronchiale verificatosi immediatamente dopo la iniezione endovenosa di 0,5 cc. per kg. dell'estratto epatico in esperienza.

d) *Identificazione per via chimico-cristallografica del contenuto in istamina dell'estratto epatico.*

Anche il risultato della determinazione della dose minima letale nella cavia poteva aver valore di un dosaggio biologico quantitativo della sostanza ad attività istaminica, contenuta nell'estratto epatico che ci aveva dato il descritto quadro di avvelenamento nell'uomo. Ma, non otante che le prove biologiche così concordanti potessero autorizzarci a considerare la sostanza attiva in causa come vera e propria istamina, abbiamo voluto avere una conferma della sua identità anche per via chimica.

Abbiamo precipitato la istamina supposta presente nel nostro estratto epatico con il sale di Reinecke (\*).

(\*) Abbiamo usato come precipitante dell'istamina il sale di Reinecke anziché l'acido picrico comunemente usato perchè il reineckato di istamina è molto meno solubile del picrato. Mentre il dipicrato è solubile in proporzione circa dell'1‰ (1) il reineckato di istamina secondo nostre esperienze non è solubile neppure nella concentrazione di 1 : 10.000. La preparazione del sale di Reinecke che sarebbe un tetraiodanato - diamminocromi-ammonico, alla formula  $NH_4 [Cr(SCN)_4 (NH_3)_2]$  si ottiene aggiungendo a del rodanato di ammonio fuso a caldo del biccromato di ammonio in rapporto di peso 4 : 1.

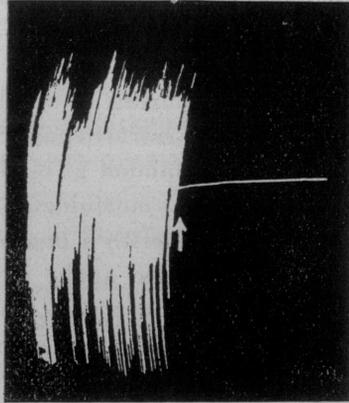


GRAFICO N. 3.

Cavia di gr. 720 (n. 3 della tabella). Tracciato respiratorio. La trachea è messa in comunicazione con un tamburino di Marey che scrive su un cilindro rotante le variazioni della pressione intratracheale. Alla freccia si iniettano per via endovenosa cc. 0,72 dell'estratto epatico in esame diluito a metà con Ringer.

Abbiamo preparato una soluzione di cloridrato di istamina calcolata alla stessa concentrazione di quella presente, secondo le prove biologiche nell'estratto epatico. Abbiamo aggiunto alla soluzione di istamina e all'estratto epatico del sale di Reinecke in eccesso (soluzione satura a freddo). Abbiamo lasciato raccogliersi i due precipitati, li abbiamo separati per filtrazione a vuoto attraverso filtri di porcellana porosa, li abbiamo lavati con acqua sul filtro, li abbiamo portati a secchezza in essiccatore a vuoto su  $\text{CaCl}_2$ . Nel caso dell'estratto epatico il Reineckato secco pesava g. 0,476, nel caso della istamina g. 0,332. Abbiamo voluto allora esaminare dal punto di vista morfologico i caratteri dei due precipitati per potere giudicare in merito a una loro eventuale identità. Di confronto abbiamo esaminato anche i caratteri del semplice sale di Reinecke. All'esame microscopico, mentre non sono risultate affatto analogie fra il sale di Reinecke e i reineckati avuti dall'estratto di fegato e dalla soluzione di istamina, fra questi due ultimi apparvero analogie assai strette. Ambedue infatti i preparati del reineckato di istamina e di quello da estratto epatico risultavano in massima parte dovuti a piccoli cristalli o a laminette prive di contorno geometrico definito, di colore rosa pallidissimo, debolmente birifrangenti.

Nel reineckato ottenuto dall'estratto di fegato, oltre a una piccola parte di sostanza estremamente minuta e perciò difficilmente definibile (\*) erano contenuti dal 50 al 70 % circa di cristalli aventi i medesimi caratteri di quelli del Reineckato di istamina. In particolare: uguale il debolissimo pleocroismo, la birifrangenza, e gli indici di rifrazione. Questi ultimi (determinati al microscopio col metodo della linea di Becke) risultarono nei due casi per la luce rossa di:  $n=1,6916$  e  $1,7360 > n' > 1,6916$  (\*\*).

Avevamo così la prova sicura della presenza di vera e propria istamina nell'estratto iniettato di fegato. Anche dal punto di vista quantitativo il risultato dell'esame chimico-cristallografico poteva considerarsi in buona concordanza con i valori calcolati in base ai saggi biologici. È vero che nel caso della soluzione di istamina pura

(\*) È interessante ricordare a questo proposito che anche il principio antianemico del fegato precipita con il sale di Reinecke (28).

(\*\*) Ringraziamo l'illustre prof. P. Gallitelli che ci ha assistito nel corso di queste determinazioni con il suo prezioso consiglio.

il Reineckato raccolto pesava soltanto circa il 70 % di quello avuto dell'estratto di fegato, ma nel caso del precipitato ottenuto, aggiungendo il sale di Reinecke all'estratto di fegato, si poteva asserire con sicurezza che si trattasse di veri cristalli di Reineckato di istamina soltanto, come abbiamo detto, per una porzione valutata approssimativamente intorno al 50-70 % dei cristalli presenti nella massa totale del precipitato.

Nei limiti quindi delle possibilità del metodo impiegato si può dire che i risultati dell'esame chimico stessero in armonia con quelli dell'esame biologico anche da un punto di vista quantitativo.

### 3° SULLE POSSIBILI CAUSE DELLA COMPARSA DI QUANTITÀ TOSSICHE DI ISTAMINA NEGLI ESTRATTI EPATICI.

Dosata dunque, per via biologica e per via chimica, la istamina presente nell'estratto di fegato che aveva dato nei nostri pazienti lo spiacevole quadro di avvelenamento, conveniva indagare per quali cause un estratto di fegato si fosse tanto arricchito di istamina. Il fegato contiene anche di norma istamina, ma in proporzioni scarse. Nel fegato di cavallo e di bue sarebbero contenuti 1,58 mg. di istamina per kg. (3); nel fegato di cavia 1 mg. (4). Invece gli estratti di fegato sono molto ricchi sia di istidina libera, sia di proteine contenenti istidina. È probabile che un fermento decarbossilante agendo su tale substrato ricco di istidina abbia portato alla concentrazione altissima di istamina presente nel nostro estratto. Ma tale fermento decarbossilante si sarà trovato preformato nel fegato o non si sarà piuttosto accompagnato allo sviluppo di una flora di germi « istaminofili » sviluppatasi sul fegato stesso? E il fermento decarbossilante avrà agito principalmente sul tessuto epatico, prima della preparazione dell'estratto, o avrà continuato a svolgere il suo effetto sul liquido di estrazione? I problemi prospettati potevano avere la loro importanza dal punto di vista pratico, per i suggerimenti che dalla loro soluzione sarebbero potuti derivare alla tecnica di preparazione degli estratti.

Abbiamo cominciato a vedere se l'estratto di fegato da noi preso in considerazione possedesse ancora un'attività decarbossilante verso la istidina.

a) *Ricerche sul potere decarbossilante verso l'istidina dell'estratto di fegato in esame.*

Prese due fiale dell'estratto di fegato che aveva provocato l'avvelenamento istaminico, ne abbiamo portata una alla temperatura di ebollizione, per cinque minuti, in modo di distruggerne l'eventuale contenuto in fermento decarbossilante (\*); indi aperte le due fiale, abbiamo preso da ciascuna di esse con molta precisione 1 cc. del liquido contenuto e lo abbiamo aggiunto, nell'un caso e nell'altro,

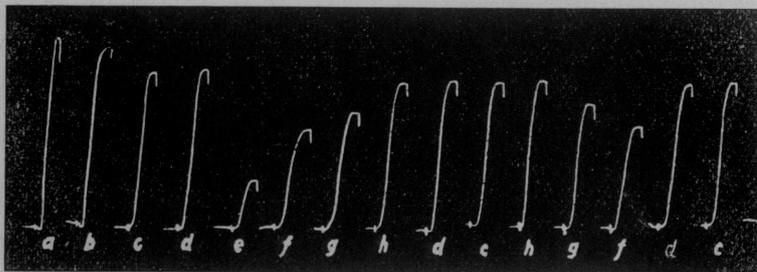


GRAFICO N. 4.

Per il significato delle varie dizioni vedi le leggende del grafico n. 1.

In a: 4 gamma di istamina.

In b: 1 cc. di una diluizione 1/15 del liquido ottenuto aggiungendo 1 cc. dell'estratto di fegato a 49 cc. di una soluzione di istidina al 2 %.

In c: lo stesso liquido che in b: ma diluito 1/17 anzichè 1 : 15

In d: 1 cc. di una diluizione 1/15 del liquido ottenuto aggiungendo 1 cc. dell'estratto di fegato, portato a 100°, a 49 cc di una soluzione di istidina al 2 %.

In e: 1 gamma di istamina.

In f: 2 gamma di istamina.

In g: 2,5 gamma di istamina.

In h: 3,3 gamma di istamina.

*Se si ammette che le contrazioni c, d, h siano uguali si può concludere che nel liquido a cui si era aggiunto 1 cc. di estratto di fegato tale e quale la istamina contenuta era di 2800-gamma, e nel liquido a cui si era aggiunto 1 cc. di estratto di fegato portato a 100°, la istamina era presente invece in quantità di 2470 gamma.*

(\*) Esperienze preliminari che non riproduciamo per non turbare lo schema del lavoro, ci avevano provato che con l'ebollizione non andava per nulla modificata l'attività istaminica dell'estratto di fegato: come del resto si poteva senz'altro prevedere.

a 49 cc. di una soluzione debitamente neutralizzata di cloridrato di istidina al 2 % in Ringer. Abbiamo lasciato le soluzioni in termostato per 48 ore sotto toluolo: indi abbiamo proceduto ai dosaggi, di cui il risultato appare dal tracciato n. 4.

A giudicare dai risultati riprodotti nel grafico n. 4, sembra che nell'estratto di fegato esaminato esistesse una certa attività decarbossilante verso la istidina. Infatti nella prova eseguita con soluzione di istidina a cui si era aggiunto l'estratto di fegato non bollito si sarebbero liberati dopo 48 ore circa 0,3 mg. di istamina in più che nella prova di controllo eseguita con l'estratto di fegato portato a 100°. Va osservato però che anche per la soluzione di istamina a cui si era aggiunto l'estratto di fegato portato a 100° risultò un contenuto istaminico più alto di quello calcolato in base ai numerosi precedenti dosaggi. La differenza può essere dovuta soltanto in parte al contenuto in istamina della istidina adoperata, poichè da altre nostre esperienze è risultato che 1 g. della nostra istidina conteneva appena 6 gamma di istamina (10). Si può pensare o a una liberazione spontanea di istamina dalla istidina nelle condizioni sperimentali da noi adottate, o alla presenza nell'estratto epatico di una qualche sostanza di natura non fermentativa capace di favorire quella liberazione.

Restava da conoscere in qual modo l'estratto di fegato si fosse potuto arricchire del fermento decarbossilante. Abbiamo pensato alla possibilità che alcuni dei così detti germi istaminofili, tanto diffusi, avessero agito sul fegato da cui si era ricavato l'estratto, e ne avessero liberato istamina. La flora istaminofila si sarebbe sviluppata durante i processi putrefattivi, e una certa quantità del fermento decarbossilante (attraverso il quale avrebbero agito i germi ricordati) sarebbe poi passata nell'estratto. In armonia con questa ipotesi abbiamo eseguito le seguenti esperienze.

b) *Determinazione della istamina che si libera durante i processi putrefattivi del fegato.*

Abbiamo preso del fegato di vitello e lo abbiamo frityurato in un mortaio con sabbia di quarzo in presenza di una quantità doppia di Ringer (in volume rispetto al peso del fegato), in modo da otte-

nera una buona estrazione. Di questo estratto una parte è stata raccolta, filtrata, portata all'ebollizione e conservata; un'altra parte è stata lasciata a sè, in termostato a 37°, per 24 e per 48 ore. Trascorse le 24 e le 48 ore anche da questa parte dell'estratto è stato raccolto del liquido, filtrato e portato all'ebollizione. Finalmente è stato fatto un estratto, sempre con Ringer e sempre in proporzione 1:3, partendo dallo stesso fegato che era servito per la preparazione dell'estratto precedente, ma dopo averlo tagliuzzato in pezzetti non troppo sottili, e lasciato così in termostato per 48 ore.

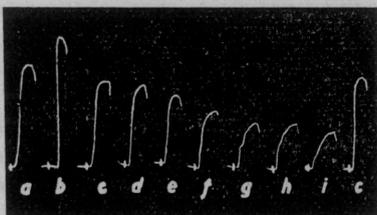
Abbiamo poi proceduto al dosaggio della istamina dei vari liquidi che corrispondevano essenzialmente: 1° ad un estratto di fegato fresco; 2° a un estratto di fegato triturato e lasciato macerare in presenza di liquido fisiologico per 24 ore in termostato; 3° a un estratto analogo ma lasciato macerare per 48 ore; 4° a un estratto ottenuto di fresco ma da un fegato tagliuzzato e lasciato così per 48 ore in termostato.

I risultati hanno avvalorato in pieno la nostra ipotesi. Durante i processi putrefattivi aumenta in maniera assai rilevante la quantità di istamina. Se il fegato è lasciato macerare dopo essere stato triturato i processi putrefattivi e la liberazione di istamina si svolgono con intensità maggiore che non lasciando il fegato a sè. Precisamente, come appare dal grafico 5°, se si calcola la percentuale di istamina per g. di fegato in base ai valori determinati per i singoli estratti, risulta: per ogni g. di fegato fresco, un contenuto di 4,6 gamma di istamina; per ogni g. di fegato lasciato macerare per 24 ore, un contenuto di 112 gamma di istamina; per ogni g. di fegato lasciato macerare nelle stesse condizioni, ma per 48 ore, un contenuto di 450 gamma di istamina; per ogni g. di fegato tagliuzzato e lasciato a sè in termostato per 48 ore, un contenuto di gamma 225 di istamina.

Il fenomeno che ci sembra più saliente come risultato di questa serie di prove è costituito dalla rapidità con cui un estratto epatico lasciato a sè in termostato a 38° si arricchisce nel contenuto in istamina. Già dopo 24 ore la concentrazione istaminica è diventata 25 volte, dopo 48 ore, ben 100 volte più forte rispetto ai valori iniziali.

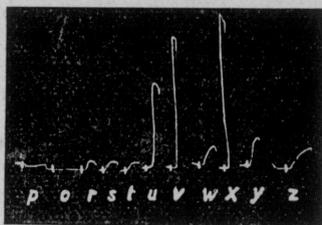
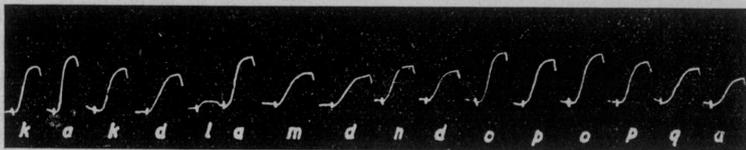
Il grafico n. 5 si riferisce a determinazioni fatte sullo stesso tratto di intestino. Il primo quadro in alto si riferisce a saggi ottenuti facendo agire gli estratti di fegato sull'intestino non atropinizzato. La seconda parte del grafico riguarda saggi eseguiti dopo atropinizzazione ed è la parte utile di tutto il grafico per il dosaggio quantitativo dei vari estratti. La terza parte, in basso, del grafico dimostra la reattività dell'intestino di fronte ai vari estratti dopo che si sono fatti agire su di esso i corpi antiistaminici di Fourneau (il 929 F. o timossietil dietilamina, e il 1571 F. o dietilaminoetiletilanilina) ciascuno in concentrazione di 1 : 1.000.000, per un minuto.

GRAFICO N. 5.



*Nel quadro alto del grafico:*

- In a: 0,1 gamma di istamina.
- In b: 0,02 gamma di acetilcolina cl.
- In c: 0,01 gamma di acetilcolina c.
- In d: 0,05 gamma di istamina.
- In e: 1 cc. dell'estratto di fegato



lasciato macerare per 24 ore diluito  
1 : 1.000.

- In f: 0,025 gamma di istamina.
- In g: 1 cc. dell'estratto preparato da fegato fresco e diluito 1 : 70.
- In h: 1 cc. di un estratto analogo preparato da fegato fresco e diluito pure 1 : 70.
- In i: 0,02 gamma di istamina.

*I risultati che si potrebbero avere dai dosaggi riprodotti nel quadro in alto sarebbero concordanti con quelli che risulteranno dalle prove successive fatte su intestino atropinizzato: è chiaro però come soltanto a queste seconde prove si possa dar valore per documentare la quantità di istamina presente. La concordanza dei risultati ci fa invece escludere un contenuto notevole di sostanze coliniche negli estratti di fegato da noi preparati.*

*Nel secondo quadro del grafico:*

- In *k*: 1 cc. dell'estratto di fegato lasciato macerare per 24 ore diluito 1 : 500.  
In *a* : 0,1 gamma di istamina.  
In *d*: 0,05 gamma di istamina.  
In *l*: 100 gamma di acetilcolina cl.  
In *m*: 1 cc. dell'estratto preparato da fegato fresco diluito 1 : 20.  
In *n* : 1 cc. di un estratto analogo di fegato fresco e diluito pure 1 : 20.  
In *o*: gamma 0,2 di istamina.  
In *p*: 1 cc. di estratto di fegato lasciato macerare per 48 h diluito 1 : 1000.  
In *q*: 1 cc. dell'estratto preparato da fegato tagliuzzato e lasciato a sè in termostato per 48 ore diluito 1/500.

*Ammettendo che la contrazione k abbia valore intermedio tra a, e, d si verrebbe a calcolare per 1 cc. del liquido in esame una attività istaminica corrispondente a gamma  $0,075 \times 500$ , cioè: gamma 37,5. Per g. di fegato nell'estratto macerato da 24 ore si avrebbero dunque gamma 112,5 di istamina.*

*Ammettendo che le contrazioni m ed n abbiano valore intermedio tra a, e, d si verrebbe a calcolare per 1 cc. del liquido in esame una attività istaminica corrispondente a gamma  $0,075 \times 20$  cioè: gamma 1,55. Per g. di fegato nell'estratto fresco si avrebbero dunque gamma 4,65 di istamina.*

*Ammettendo che la contrazione p sia intermedia tra o ed a, si verrebbe a calcolare per ogni cc. dell'estratto di fegato lasciato macerare per 48 ore un'attività istaminica corrispondente a gamma  $0,15 \times 1000$  cioè: gamma 150. Per g. di fegato nell'estratto lasciato macerare per 48 ore si avrebbero dunque gamma 450 di istamina.*

*Ammettendo che q abbia pure un valore intermedio tra o ed a si verrebbe a calcolare per 1 cc. del liquido in esame un'attività istaminica corrispondente a gamma  $0,15 \times 50$  cioè: gamma 7,5. Per g. di fegato nell'estratto ottenuto a fresco, ma da materiale lasciato per 48 ore in termostato, si avrebbero gamma 225 di istamina.*

*Nel terzo quadro in basso, del grafico:*

- In *p*: 1 cc dell'estratto di fegato lasciato macerare per 48 ore e diluito 1 : 1000.  
In *q*: 0,2 gamma di istamina.  
In *r*: 1 cc dell'estratto ottenuto di fresco ma da fegato lasciato a sè in termostato per 48 ore.  
In *s*: 1 cc. dell'estratto fresco di fegato.  
In *t*: 1 cc. di altro estratto fresco di fegato.  
In *u*: 1 cc. dell'estratto di fegato lasciato macerare per 24 ore diluito a metà con Ringer.  
In *v*: 1 cc. dell'estratto di fegato lasciato macerare per 48 ore.  
In *w*: 10 gamma di istamina.  
In *x*: 100 gamma di istamina.  
In *y*: 1 cc. dell'estratto di fegato lasciato macerare per 48 ore diluito 1 : 100 con Ringer.  
In *z*: 1 gamma di istamina.

*Questa terza parte del grafico ci dimostra come in seguito all'effetto dei corpi antiistaminici di Fournau sia scomparsa la reattività dell'intestino, sia di fronte agli estratti di fegato, che di fronte alla istamina. Ma, in seguito ai successivi ripetuti lavaggi, la reattività dell'intestino ricomparve in forma progressivamente crescente, tanto per l'istamina che per gli estratti epatici. Una siffatta graduale ripresa di sensibilità del reattivo biologico dopo il trattamento con i corpi antiistaminici ha, secondo la nostra esperienza, un significato anche più specifico che non una parziale inibizione verso la istamina determinata dalle piccole dosi degli stessi corpi antiistaminici.*

E, nel caso di questi stessi valori iniziali, va ricordato come, in base a quanto risulta dalle nostre esperienze, se si volessero stabilire degli esatti valori fisiologici sul contenuto istaminico del fegato dei vari animali, occorrerebbe provvedere alla preparazione di estratti appena ucciso l'animale. Anche il valore da noi calcolato di 4,6 gamma di istamina per g. di fegato di vitello può essere considerato più alto che il valore effettivo perchè, il nostro estratto venne allestito alcune ore dopo la macellazione dell'animale.

Che la sostanza presente negli estratti sia proprio costituita da istamina è dimostrato dalla elettività di effetto sull'intestino atropinizzato di cavia e dalla inibizione caratteristica esercitata dai corpi antiistaminici di Fournau.

Sarebbe molto interessante studiare se anche durante un processo di autolisi asettica del fegato se ne possa arricchire il contenuto in istamina. Nel nostro caso l'aver dimostrato che in un fegato lasciato a sè a 38° aumenta così intensamente la quantità di istamina ci lascia presumere che l'eventuale comparsa di quantità tossiche di istamina negli estratti epatici, analoga a quella occorsa alla nostra osservazione, possa derivare dall'uso, come materiale di estrazione, di fegati prelevati da tempo e non conservati con le dovute cautele.

#### OSSERVAZIONI E CONCLUSIONI.

Giunti così al termine della esposizione delle nostre ricerche, converrà che ne esaminiamo ora i risultati da un punto di vista generale. Anzitutto ci possiamo chiedere se esistesse o no un effettivo pericolo di morte per le dosi di istamina contenute nel preparato epatico, che abbiamo iniettato a scopo ricostituente-antianemico. Nei nostri due soggetti si è trattato certamente di un quadro tos-

sico molto notevole e la nostra impressione clinica è che la bambina, se non fossimo intervenuti prontamente con la iniezione di cardiazolo, si sarebbe forse anche potuta perdere. Tuttavia non deve essere dimenticato che in casi di gravissimi shock circolatori di altra natura si possono avere delle riprese insperate. Nel caso dello shock istaminico pochi lumi ci possono venire dall'esame, che pure abbiamo eseguito con ogni scrupolo, della letteratura. La quantità di istamina presente nelle fiale di estratto epatico da noi adoperate era dell'ordine delle dosi massime di quelle usate da Schenk. Con dosi di 8 mg. di istamina lo Schenk, in quelle sue esperienze, che abbiamo definite di tossicologia sperimentale sull'uomo, ottenne in un soggetto una gravissima crisi di insufficienza cardiaca ma non la morte. Viceversa un caso di morte venne descritto da Majjala (18) in seguito a iniezioni di soli 0,8 mg. di istamina. Sembra dunque che nell'uomo non si possano stabilire, neppure con una qualche approssimazione, i limiti fra dosi di istamina tollerata e dosi pericolosa *quoad vitam*. La posizione di questi limiti dipenderà soprattutto dallo stato circolatorio dei singoli soggetti e dalla loro reattività in generale verso l'istamina. Per quanto riguarda la compromissione del circolo, rileviamo come nell'uomo siano appunto i fatti circolatori quelli che dominano il quadro dell'avvelenamento istaminico a differenza di quanto avviene, per esempio, nel caso della cavia, in cui è maggiormente colpita la funzione respiratoria nell'uomo.

Lo shock circolatorio è dovuto ad una deficienza periferica del grande circolo, senza che vi partecipi, come fattore di analoga importanza, il circolo polmonare. Conseguenzialmente viene logico supporre che in casi di avvelenamento da istamina nell'uomo debbano essere soprattutto efficaci gli analettici circolatori, capaci di rialzare il tono vasale e di attivare, come nel caso dei canforici, la funzione del così detto cuore periferico. Infatti nella bambina da noi trattata con il cardiazolo l'effetto è stato pronto e notevole. Abbiamo accennato sopra a uno stato di diversa reattività individuale verso l'istamina. Si potrebbe osservare che una certa variabilità individuale di comportamento si può ammettere nei confronti di tutti i farmaci. Ma nel caso particolare della istamina sembra che tali differenze possano essere assai cospicue. Come uno di noi ha

avuto altrove occasione di osservare (11), si tratterà di un diverso stato di abitudine a quelle varie quantità di istamina che, generatisi soprattutto per via endogena e per svariate cause, potranno più o meno fortemente subire l'influsso della istaminasi. È certo che un differente modo di reagire all'istamina si nota generalmente nella pratica clinica: basti pensare alla diversa reattività locale nei singoli soggetti, al quadro più o meno intenso con cui si può manifestare, per uno stesso stimolo da istamina o da sostanze istaminosimili, la famosa triade di Lewis. In generale saranno particolarmente sensibili alla istamina i soggetti disposti alle reazioni allergiche.

Quasi per uno scherzo ironico della sorte, nelle indicazioni che la Casa preparatrice accompagnava alle fiale del nostro estratto epatico, figurava anche quella del trattamento delle manifestazioni allergiche! Non c'è male! Per una cura desensibilizzante, una dose di 10 mg. di bicloridrato di istamina non si può accusare davvero di eccessiva aderenza alle prescrizioni omeopatiche!

Ma da un punto di vista positivo, questa indicazione della efficacia dei preparati di fegato nelle manifestazioni allergiche non va dimenticata. Sarà nuovo motivo per prospettare l'opportunità che, ad evitare il ripetersi di incidenti spiacevoli, ogni partita di un preparato di fegato, destinato ad essere introdotto per via ipodermica, venga dosata nel suo contenuto in istamina. Basterà stabilire, mediante il saggio della dose letale nella cavia, che l'eventuale contenuto in istamina sia al di sotto di un determinato limite massimo. Per esempio si potrebbe stabilire che l'estratto epatico contenuto in una fiala se iniettato nella cavia per via endovenosa (e per kg. di peso) non dovesse determinarne la morte. Si verrebbe così a fissare un contenuto massimo tollerato di istamina inferiore a 0,5 mg. per fiala.

Non si potrà certo pretendere invece che per ogni singola preparazione sia indicato il contenuto esatto di istamina: anche perché, come abbiamo visto, il contenuto istaminico del fegato può variare assai a seconda dello stato di conservazione di questo, e quindi probabilmente la entità della concentrazione istaminica varierà per ogni singola partita di estratto iniettabile, anche quando si adoperi un identico procedimento di estrazione.

Tuttavia il conoscere l'effettivo contenuto in istamina degli estratti epatici che adopera (sebbene si dovesse trattare di piccole quantità) non sarebbe, per un attento osservatore clinico, senza un qualche interesse. Si potrebbe, per esempio, chiarire se l'effetto antiallergico che si ammette per i preparati epatici, debba essere attribuito a qualche sostanza protettrice del fegato, presente negli estratti da esso ricavati [lo xantinato di sodio, per es., degli autori americani (9-20), o la sostanza attiva dello Yacriton dei giapponesi (23)] o non più semplicemente a un effetto desensibilizzante delle piccole dosi di istamina contenute negli estratti. Volendo spingerci più oltre nel campo delle ipotesi, potremmo anche immaginare che l'istamina fosse capace per conto suo di attivare l'effetto del principio antianemico. Basti ricordare l'intensa achilia dei biermeriani. Basti accennare alla asserzione di Danielopolu (8) che qualche anno fa annunciava di guarire gli anemici perniciosi soltanto con l'acetilcolina. Si potrebbe ricordare ancora che l'istamina da sola è capace di provocare un aumento di globuli rossi (17-26) e che nella policitemia rubra esiste un notevole aumento della istaminemia (19) (\*). Qualunque sia per essere la soluzione di questo problema, dell'eventuale influsso cioè della istamina sull'attività dell'ormone antianemico, è chiaro che non si potrà mai permettere che si ricorra a del fegato in via di putrefazione, perchè più ricco in istamina per preparare degli estratti. Anche quando fosse dimostrato che durante lo svolgersi di un'autolisi asettica del fegato si venisse a liberare dell'istamina, per l'eventuale presenza di un fermento decarbossilante preesistente nella cellula epatica, non penseremo mai di ricorrere a mezzi di questo tipo per arricchire un estratto epatico di istamina. Sarebbe invece interessante poter stabilire con esattezza fino a qual limite dello svolgersi di processi autolitici, un fegato si arricchisca in fattore antianemico. È noto soltanto che un fegato perfettamente fresco è privo dell'attività caratteristica antiperniciosa (22). Se un giorno si troverà un testo sicuro ed opportuno per dosare il potere antianemico di un estratto di fegato, si potrà anche stu-

(\*) Questo nostro lavoro era già scritto, quando un nuovo esame attento della letteratura ci ha rivelato che già Pal (21) si era posto il problema di un eventuale effetto utile della istamina nelle anemie e nell'anemia perniciosa in particolare.

diare se esista per avventura un parallelismo fra arricchimento in istamina e arricchimento nel potere antianemico di un estratto epatico: così che le variazioni del tasso di istamina possano quasi servir da guida per immaginare il comportamento del fattore anti-pernicioso. Ma fino a che l'esistenza di questo parallelismo debba considerarsi al massimo come un'ardita ipotesi di lavoro, il reperto da noi osservato di un progressivo aumento della concentrazione istaminica di un fegato o di un estratto epatico, che si lasci putrefare, potrà soltanto avere un valore di orientamento pratico in un senso tutto diverso.

Tutte le volte cioè che un estratto epatico ci si dimostrerà assai ricco di istamina potremo avere argomento di legittimo sospetto per immaginare che quell'estratto sia stato preparato con fegato guasto, e sia quindi, anche da questo punto di vista, da non ammettersi per l'uso come estratto iniettabile.

## BIBLIOGRAFIA

- (1) ACKERMANN e MOHR, « Zschr. f. phys. Chem. », 1938, 255, 75.
- (2) BARSOUM e GADDUM, « Journ. of Physiol. », 1935, 85, 1.
- (3) BEST, DALE, DUDLEY e THORPE, « J. Physiol. », 1927, 62, 397.
- (4) BLOCH e PINÖSCH, « Zschr. f. phys. Chem. », 1936, 259, 236.
- (5) BOURNE e BURN, « Journ. Obst. and Gyn. of Brit. Emp. », 1927, 54, 249.
- (6) CARNOT, KOSKOWSKI e LIBERT, « C. R. S. B. », 1922, 86, 575 e 670.
- (7) CODE, « Journ. of Physiol. », 1937, 89, 257.
- (8) DANIELOPOLU e BRAUMER, « Presse Méd. », 1937, 11, 1507.
- (9) FORBES, « Journ. of Pharm. and exper. Ther. », 1939, 65, 287.
- (10) GIBERTINI, « Boll. Soc. It. Biol. Sper. », 1942 (in corso di stampa).
- (11) GIBERTINI e CACCIAVILLANI, « Gazz. Osp. e Clin. », 1942.
- (12) GOMPERTZ e COHEN, « Amer. I. Med. Sc. », 1929, 177, 59.
- (13) JAEGER, « Zentr. für Gyn. », 1913, 1, anno 37, fasc. 8 - 257. « Münch. Med. Wschr. », 1913 anno 60, pag. 1714.
- (14) KEHRER, « Münch. Med. Wschr. », 1912, n. 33.
- (15) KISCH, « Klin. Wschr. », 1939, II, 1534.
- (16) KOCK, « Arch. f. Gyn. », 1898, fasc. 2; « Zbl. f. Gyn. », 1915, I, pag. 564.
- (17) KUSHCHINSKY, « Zschr. f. exp. Med. », 1929, 64, 563.
- (18) MAJIALA, « Sammlung von Vergiftungsfällen », 1938, 9, 75.
- (19) MARCOU, « Compt. Rend. Soc. Biol. », 1937, 126, 726.
- (20) NEALE e WINTER, « Journ. of Pharm. a. exp. Ther. », 1938, 62, 127.

**AVVELENAMENTO ACUTO  
ECC.**

- (21) PAL, «Wien. Klin. Wschr.», 1928, 34, 1216; «Dtsch. med. Wschr.», 1928, 37, 1544.
- (22) ROTH, «Klin. Wschr.», 1936, II, 1431.
- (23) SATO, «Tohoku Journ. exp. Med.», 1926, 8, 252.
- (24) SCHENK, «Arch. f. exp. Path. u. Pharm.», 1921, 89, 332.
- (25) SCHIMPF, «Manual of volumetric Analysis». Wiley, New York, 1909, pag. 614 e sg.
- (26) SMITH, «Journ. of Pharm. a. exp. Ther.», 1928, 32, 465.
- (27) STEFFENONI, «Arch. di Farm. Sper.», 1941, 71.
- (28) WILKINSON, citato da AMMON e DIRSCHERL, *Fermente, Hormone, Vitamine. - Thieme*. Leipzig, 1938, pag. 379.
- (29) ZAMBONI, «Atti 1° Congresso Soc. It. Farmacologia», Firenze, 1940 (in corso di stampa).
- (30) ZARA, «Rass. di Ter. e Pat. Clin.», 1952, 4, 85.

**RIASSUNTO**

L'A. ha condotto una serie di esperienze per il dosaggio dell'istamina nell'estratto epatico iniettato a soggetti affetti d'anemia, e per l'identificazione di istamina nell'estratto epatico stesso riuscendo a stabilire, sia col metodo chimico, sia col metodo biologico che la dose minima letale per via endovenosa e per kg. di cavia corrisponde a 0,25 dell'estratto.

Altre esperienze lo hanno portato a stabilire che il fegato fresco è quasi privo di istamina di cui si arricchisce lasciandolo in preda a processi di putrefazione. Termina prospettando la possibilità di piccole dosi di istamina contenute nell'estratto epatico possono favorire l'effetto dell'ormone antifanemico del fegato.

97909

Esemplare libri commercio per  
la distribuzione agli effetti di  
tempo

346785

