



COLLEZIONE MEDICA DI ATTUALITÀ SCIENTIFICHE

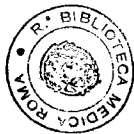
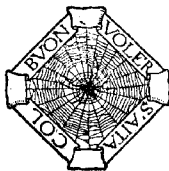
DIRETTA DA G. VIOLA

Serie I

N. 14

DOTT. ENRICO GREPPI

**I VALORI NORMALI  
DEL RICAMBIO EMOGLOBINICO  
L'INDICE EMOLITICO**

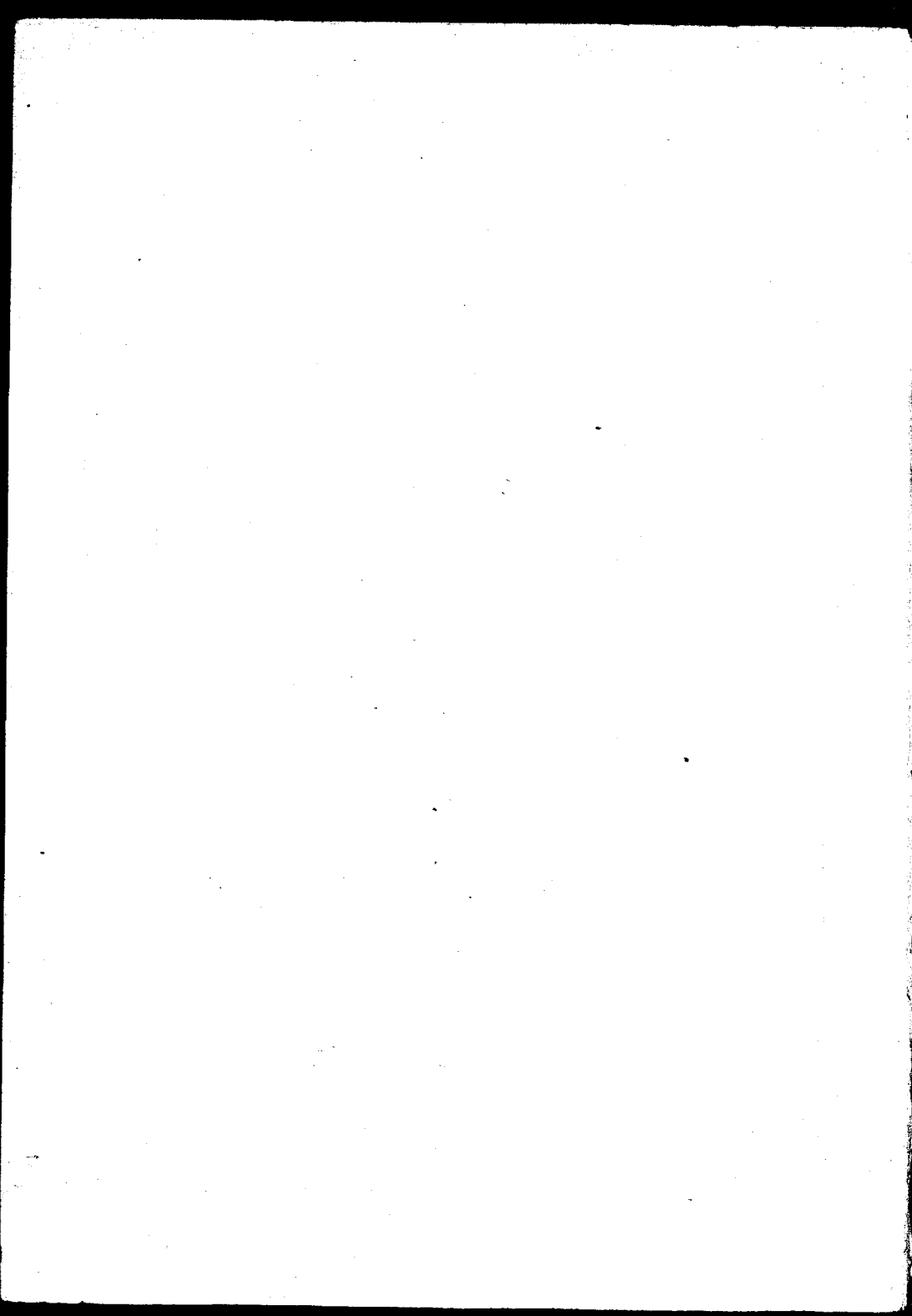


BOLOGNA - L. CAPPELLI - EDITORE

ROCCA S. CASCIANO - TRIESTE

1926

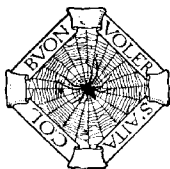
*Aut. N. 1310.*



DOTT. ENRICO GREPPI

---

I VALORI NORMALI  
DEL RICAMBIO EMOGLOBINICO  
L'INDICE EMOLITICO



BOLOGNA - L. CAPPELLI - EDITORE

ROCCA S. CASCIANO - TRIESTE

1926





### SOMMARIO

Elementi di giudizio. - Emoglobina percentuale e totale. - Bilina: eliminazione media quotidiana.  
- Rapporto quantitativo fra emoglobina e bilina: ciclo vitale del sangue. - Indice emolitico.

Lo studio del Ric. Hbinico (Ricambio emoglobinico) è rimasto alquanto trascurato durante molto tempo, non tanto perchè non se ne riconoscesse l'importanza quanto piuttosto per una sorta di scetticismo verso le possibilità pratiche dell'indagine. Posti i fondamenti della dottrina relativa alla derivazione dall'emoglobina della bilina intestinale (stereobilina) con l'anello intermedio del pigmento biliare; dimostrata dal MÜLLER l'origine intestinale dell'urobilina che compare nelle urine, veniva naturale di prendere in considerazione questi residui del pigmento sanguigno, eliminati dall'organismo, per i loro rapporti con il ricambio Hbinico. Le note ricerche di RIVA e ZOJA hanno mirato appunto a dimostrare che l'eliminazione della bilina è l'esponente, e fino ad un certo punto l'indice quantitativo del processo di distruzione del sangue: rappresenta cioè l'unico criterio per giudicare del grado di emolisi normale e patologica.

Senonchè le difficoltà pratiche per la determinazione della bilina sono sempre state notevoli, tali da obbligare all'uso di metodi ancora grossolani (sebbene sufficienti per un criterio clinico approssimativo: p. es., la ricerca spettroscopica sull'estratto cloroformico secondo RIVA e ZOJA) oppure complicati per tecnica e strumentario (BRUGSCH e RETZLAFF, CHARNASS). Inoltre il valore del rapporto fisiopatologico fra bilinia ed emolisi è rimasto oscurato per i più dalla considerazione unilaterale della urobilinuria come fenomeno a sè, ancor oggi oggetto di studio e di incertezza per i fattori che vi prendono parte e soprattutto per il tanto discusso intervento del fegato: considerazione unilaterale e praticamente inopportuna, dato che il reperto dell'urobilinuria, comunque voglia interpretarsi per il suo meccanismo, non può sminuire in misura sensibile non solo il significato ma nemmeno il valore quantitativo della bilinia intestinale come indice dell'emolisi intraorganica.

Conseguenza di questo errato ragionamento era stata, per la grande maggioranza dei medici, la messa in oblio della determinazione della stereobilina come criterio per il Ricambio Hbinico: la ricerca qualitativa della bilina conservava soltanto valore semeiotico, testimoniando la pervietà delle vie di deflusso della bile dal fegato all'intestino.

L'argomento ha ripreso il suo vero aspetto ed ha richiamato nuovamente l'attenzione da pochi anni. E vale la pena di notare come a favorire il diverso orientamento abbia giovato non tanto la dimostrazione di nuovi fatti quanto invece il successo di un libro: il notissimo testo sulle « malattie epato-spleniche » dell'EPFINGER, in cui l'importanza della stereobilina nei suoi rapporti con l'emolisi viene riaffermata sulla scorta di una ricca documentazione. Sta il fatto che, da allora ad oggi, molti lavori sono stati pubblicati che parlano in questo senso; ed ormai uno studio accurato di forme di anemia, di emopatie in generale, non può limitarsi ai criteri morfologici senza prender atto anche di quelli chimici, relativi all'entità dell'emolisi, chè altrimenti il giudizio sulle condizioni attive della crasi sanguigna e degli organi emopoietici, risultante caso per caso dal rapporto fra i due momenti formativo e distruttivo, resta deficiente o del tutto erroneo.

I contributi più recenti sono quelli di ADLER, SONNENFELD, HANSMANN e HOWARD, GORKE, GREPPI, JAKOBS e SCHEFFER, LICHTENSTEIN e TERWEN, PIETRA, KÜHL, per citare solo le ricerche condotte con criterio sistematico. Nella casistica delle emopatie, soprattutto nelle forme legate ad alterazioni funzionali della milza e del Reticolo-endotelio, si trovano quasi sempre accenni ai diversi reperti che possono servire d'indizio per un'emolisi morbosa: la bilirubinemia, la pleiceromia biliare, la iperbilirinemia fecale ed urinaria; tuttavia ancora troppo spesso in termini incompleti, specialmente per la mancanza di dati relativi alla bilinia intestinale che è di gran lunga il criterio più importante.

Alle osservazioni cliniche si sono aggiunti anche nuovi tentativi di tecnica, con ricerche d'ordine fisiopatologico che mirano a colmare la più grave lacuna delle nostre conoscenze in questo campo: il rapporto fra la porzione di emoglobina distrutta e la quantità di bilina eliminata. Lo scopo della mia nota è appunto quello di riferire e ricollegare fra loro una serie di dati quantitativi sulla crasi sanguigna e sul Ric. Hbिनico in condizioni normali: in un lavoro a parte riunirò le ricerche condotte nelle anemie primitive e secondarie, mentre rimando alla mia memoria « Sul Ric. Hbिनico » per i vari aspetti teorici dell'argomento.

#### ELEMENTI DI GIUDIZIO PER IL RICAMBIO EMOGLOBINICO

In questo campo, come del resto in altri capitoli della medicina umana, l'osservazione clinica e la patologia sperimentale hanno preceduto le conoscenze fisiologiche. I fenomeni riscontrati nelle emopatie primitive, soprattutto nelle anemie perniciose e nell'ittero emolitico, ed i fatti provocati negli animali per opera di agenti emolitico-itterogeni, hanno messo in luce il comportamento dei radicali pigmentati d'origine sanguigna e richiamato l'attenzione sul quesito della durata vitale dei globuli rossi e sul ritmo di trasformazione biochimica dell'emoglobina. Prima d'allora mancava qualunque nozione sui rapporti quantitativi del ricambio del sangue in condizioni fisiologiche, ed anche ai nostri giorni i testi di fisiologia non riportano che qualche cifra relativa alla quantità percentuale di Hb. ed alla massa totale del sangue circolante, in generale dati antiquati e ripresi senza critica; nessun accenno intorno al grado dell'emolisi nè al modo di apprezzamento di esso.

Le ricerche sugli animali, di per sé scarsissime, non permettono poi, per questo come per gli altri capitoli del ricambio, alcuna deduzione quantitativa per l'uomo. Studi diretti sull'uomo sono stati per l'appunto compiuti in epoca recente, con metodi più esatti e con risultati relativamente concordi: tuttavia i singoli autori hanno

preso ciascuno in esame uno degli elementi necessari, accettando per gli altri i valori tradizionali: vale a dire, hanno fatto indagini isolate o sulla quantità percentuale di Hb., o sulla massa di sangue o sull'aliquota di bilina eliminata giornalmente.

*È evidente che un giudizio esatto sul Ric. Hb. è solo possibile quando si conosca la quantità complessiva di Hb. di cui è ricco l'organismo individuale, e la porzione di essa che viene di continuo distrutta ed allontanata dal sangue per esservi sostituita* — in condizioni normali di equilibrio — da una parte equivalente di pigmento e globuli neoformati. Occorre dunque determinare l'aliquota in peso di Hb. per 100 parti di Sangue, ed il volume del sangue circolante, per dedurne la provvista totale del pigmento: inoltre la quantità totale di bilina nelle feci, per il suo rapporto con l'emolisi. Naturalmente non è facile per ogni singolo caso raccogliere tutti questi dati per determinazione diretta, all'infuori della percentuale di Hb. e della bilina: per la massa totale del sangue si possono assumere i valori medi già stabiliti mediante i metodi più recenti, che del resto sono di applicazione clinica assai semplice per i casi in cui si richieda uno studio più completo. Vedremo poi come, nella pratica comune, anche a prescindere dalla conoscenza reale, quantitativa, del Ric. Hb., per la quale è necessario il calcolo dell'Hb. presente in toto, basti valutare il tasso percentuale di Hb. e la quantità media (in peso) della stereo-bilina per comporne, insieme con il peso del corpo, un « Indice emolitico » che è ricco di significato clinico.

Io ho avuto modo, durante gli ultimi due anni, di fare alcune ricerche su ciascuno di questi elementi, applicando i metodi tecnici più recenti e adatti: sono perciò in grado di indicare i valori quantitativi del Ric. Hb. su una scorta sufficiente di dati, che in parte rappresentano cifre medie normali, risultanti da molte determinazioni, in altri casi invece sono stati tutti direttamente calcolati per il medesimo soggetto così da offrire un quadro completo della crisi sanguigna.

#### HB. PERCENTUALE E TOTALE

Con i comuni apparecchi d'uso clinico si suole esprimere la quantità di Hb. con una cifra ottenuta per lo più mediante lettura colorimetrica e riferita ad una scala la cui cifra 100 deve corrispondere al contenuto in pigmento del sangue normale. Senonchè i diversi colorimetri non si accordano fra loro nella scelta dell'optimum fisiologico, spesso anzi portano una miscela campione creata su una scala affatto arbitraria: ne consegue l'impossibilità di avere valori assoluti in peso. Del resto, anche la concentrazione di Hb. fino ad ora accettata come media normale sulla base di determinazioni dirette — circa gr. 14 % — non è confermata da ricerche più recenti.

L'argomento ha richiamato molta attenzione in America: i risultati sono concordi, e numerosi autori insistono per correggere secondo un valore « standard » più esatto le scale degli Hb.ometri d'uso comune. I nuovi dati sono stati ottenuti per la maggior parte con l'apparecchio ed il metodo di VAN SLYKE, cioè mediante estrazione a vuoto dell'ossigeno legato all'Hb.: si calcola il pigmento in gr., per 100 cm. di sangue. Con altri metodi recenti, che prendono i dati del metodo V. SLYKE come base e si controllano su di esso, sono riferiti valori analoghi. Secondo HADEN, WILLIAMSON, LINDSAY-RICE, la quantità normale di Hb. nell'uomo adulto oscilla fra gr. 14-17 %, in media gr. 15,6 % su circa 70 determinazioni: OSGOOD su 137 soggetti ha trovato come media gr. 15,76 %. La classica cifra di gr. 14 %, accettata largamente nella letteratura e riportata dai trattati di Fisiologia (Cfr. LUCIANI, BEAUNIS-ABUCCO, TIGERSTEDT, GLEY) è frutto di ricerche antiche condotte con metodi non perfezionati. Ci si

riferisce soprattutto al contributo dello HALDANE che però ha studiato solo 12 soggetti giudicati normali: inoltre l'errore in meno è spiegato dal V. SLYKE anche per ragioni tecniche.

Io ho descritto in un'altra nota la tecnica del metodo di V. SLYKE ed i risultati ottenuti in una prima serie di soggetti normali, uomini adulti con tasso Hbinico (app. SAHLI ed AUTENRIETH) oscillante fra 90 e 110, in media 96: il valore medio con il metodo V. SLYKE era di gr. 15,6 %, cioè equivalente alle cifre degli autori americani. Sono dunque in pieno accordo con essi nel proporre come quantità percentuale di Hb. in media:

gr. 15,5 % di sangue nell'uomo adulto  
gr. 13,5 nella donna

Questo valore dovrebbe servire come Standard per i comuni Hbinometri, corrispondendo al 100 % segnato sulla scala di ogni apparecchio: sarebbe allora facile risalire per calcolo dalla cifra letta sulla scala alla quantità in peso di Hb.

La quantità totale di Hb. circolante nel sangue si può dire sia rimasta fin' ora come una grandezza praticamente ignorata. Non si trovano nella letteratura che rarissimi dati, riferiti per tradizione scolastica: in generale un valore di gr. 500 circa per un uomo di 70 Kg. è accettato dai testi come media fisiologica, risultando per semplice calcolo dalle cifre base di Hb. (gr. 14 in 100 cm. di sangue) e di volume totale del sangue pari a cm. 3500 (= 5 % peso corporeo):

$$\frac{3500 \times 14}{100} = 490 \text{ gr. Hb. } (= 0,7 \% \text{ del peso corporeo}).$$

L'unico studio notevole sull'argomento, fondato su ricerche personali, è quello del PLESCH, il quale nella sua monografia porta precisamente le cifre qui riferite. Per l'Hb. accetta la misura del 14 % come valore standard, sulla guida delle ricerche dello HALDANE e di determinazioni micrometriche del ferro del sangue. Il valore della massa di sangue è il risultato degli studi compiuti dal PLESCH con il noto suo metodo dell'ossido di carbonio, e corrisponde appunto al 5 % del peso corporeo come media nei soggetti normali.

Queste cifre servono ancora oggi come base per ogni calcolo indiretto sulla costituzione normale del sangue, per esempio nei recenti contributi di JAKOBS-SCHEFFER e LICHTENSTEIN-TERWEN intorno al Ric. Hbinico. Io le ho anche riferite nella mia memoria del 1923, non avendo allora criteri personali divergenti. Senonchè le ricerche che ho compiuto in seguito, e che sono in accordo con i lavori di altri autori, offrono per risultati valori quantitativi differenti non solo per la percentuale di Hb., come ho già dimostrato, ma anche per la quantità totale di essa in rapporto con il volume del sangue circolante.

Il metodo delle iniezioni endovenose di colori colloidali (rosso congo ecc.) introdotto dal KEITH nell'uso sperimentale e clinico per la determinazione del plasma e quindi del sangue in toto, ha al suo attivo applicazioni molto numerose e concordi. Studiando sistematicamente l'argomento sotto l'aspetto tecnico e clinico, GREPPI e RARRI hanno trovato — in conferma dei dati più accettabili proposti da altri autori — che il volume totale del sangue per un uomo adulto normale si aggira intorno al 7 % del peso corporeo, cioè corrisponde a circa 5 litri per un soggetto di 70 chili, dei quali il 54 % in media è costituito dal plasma ed il 46 % dalla massa dei globuli. Le ricerche attuali ritornano, insomma, ai valori già accettati nei testi di fisiologia sulla fede delle classiche esperienze del WELKER:  $1/13 = 7,6 \%$  del peso corporeo.

Si comprende senz'altro che, con le nuove cifre relative alla quantità totale

di Hb. (gr. 15,5 % in media) ed al volume del sangue (7 %), anche la quantità totale di Hb. risulta superiore a quanto si riteneva fin'ora. Per un uomo di 70 Kg., la provvista di Hb. sarà in media:

$$\frac{5000 \times 15,5}{100} = 775 \text{ gr. Hb. (circa 1 \% del peso corporeo).}$$

Questi i valori che risultano per calcolo dalle cifre considerabili come medie normali, e che conviene tenere a mente per giudicare sulla loro base di ogni singolo caso. Riferisco ora una serie di determinazioni dirette eseguite su vari soggetti:

|    | Caso - Età          | Peso in Kg. | Hb. % in gr.<br>(V. Slyke) | Vol. dei globuli<br>in % di sangue | Vol. totale del<br>sangue - cmc. | Percentuale<br>Hb. rispetto al<br>peso corporeo | Hb.<br>quantità totale<br>grammi | Percentuale<br>rispetto al<br>peso corporeo | Stato del soggetto       |
|----|---------------------|-------------|----------------------------|------------------------------------|----------------------------------|-------------------------------------------------|----------------------------------|---------------------------------------------|--------------------------|
| 1  | S. S. . . . . a. 50 | 52          | 15,2                       | 46,8                               | 3870                             | 7,4                                             | 585                              | 1,1                                         | Cardiopatia compens.     |
| 2  | C. L. . . . . a. 47 | 50,8        | 13,4                       | 43                                 | 3720                             | 7,3                                             | 498                              | 0,9                                         | Catarro bronch. semp.    |
| 3  | B. E. . . . . a. 29 | 57          | 15,5                       | 50                                 | 4220                             | 7,4                                             | 650                              | 1,1                                         | Gastralgia               |
| 4  | R. A. . . . . a. 23 | 56          | 15,7                       | 50                                 | 4300                             | 7,6                                             | 675                              | 1,2                                         | Sano                     |
| 5  | G. E. . . . . a. 28 | 72          | 17,2                       | 48,7                               | 5220                             | 7,8                                             | 900                              | 1,2                                         | Sano                     |
| 6  | R. B. . . . . a. 69 | 65          | 15                         | 45                                 | 5450                             | 8,3                                             | 815                              | 1,2                                         | Miocardite cronica       |
| 7  | E. C. . . . . a. 18 | 60          | 14,6                       | 46,6                               | 5050                             | 8,3                                             | 730                              | 1,2                                         | Diabete ins. (remiss.)   |
| 8  | G. S. . . . . a. 69 | 51,5        | 13,2                       | 39,5                               | 4230                             | 8,2                                             | 560                              | 1                                           | Miocardite cronica       |
| 9  | G. Erminia a. 47    | 46          | 12,6                       | 44,2                               | 4180                             | 8,9                                             | 518                              | 1,1                                         | Diabete mellito          |
| 10 | B. Ernesta a. 70    | 35,8        | 13,2                       | 44,2                               | 3480                             | 9,6                                             | 460                              | 1,3                                         | Ischialgia               |
| 11 | R. L. . . . . a. 37 | 45          | 14,1                       | 46,8                               | 4240                             | 9,4                                             | 598                              | 1,3                                         | Dispepsia intestinale    |
| 12 | C. G. . . . . a. 20 | 50          | 15                         | 50,9                               | 5000                             | 10                                              | 750                              | 1,5                                         | Diabete mell. (magro)    |
| 13 | C. V. . . . . a. 27 | 58          | 15,2                       | 48                                 | 6250                             | 10,7                                            | 950                              | 1,6                                         | Enterite febbrile        |
| 14 | M. G. . . . . a. 40 | 62,7        | 13,7                       | 49                                 | 6190                             | 9,8                                             | 850                              | 1,3                                         | Cardiopatia luetica      |
| 15 | M. G. . . . . a. 55 | 52          | 14,6                       | 46,4                               | 5970                             | 11,5                                            | 870                              | 1,6                                         | Cardiop. cron. - Bronch. |
| 16 | B. G. . . . . a. 16 | 39,2        | 14,8                       | 47                                 | 4320                             | 11                                              | 630                              | 1,7                                         | Bronchite catarrale      |

I primi 8 soggetti offrono esempi di costituzione normale per quanto riguarda volume totale del sangue e ricchezza di pigmento: la percentuale un po' bassa di Hb. nell'ultimo caso viene compensata dalla massa sanguigna. Erano individui in parte affatto sani, altri ricoverati all'ospedale per affezioni di scarsa importanza o ridotte a postumi secondari.

Negli 8 casi successivi appare oscillante ancora nei limiti normali la percentuale di pigmento (9 e 10 sono donne), alquanto elevato invece il volume del sangue circolante (oltre 8,5 % del peso corporeo): ne deriva una quantità notevole di Hb. in toto, non però come cifra a sè, ma soltanto in confronto del peso corporeo. Non si tratta di anomalie inerenti alla composizione del sangue: plasma e globuli sono fra loro in rapporto normale (vol. dei globuli intorno a 46,5 %), ciò che esclude fatti sia di poliglobulia sia di pletora plasmatica. Anche la massa sanguigna totale, in altri termini, risulta elevata se messa in rapporto con il peso dei soggetti. Ora su questo

rapporto possono influire fattori estranei e contingenti, soprattutto nel senso di una diminuzione rapida del peso cui non s'associa in generale un variare proporzionato del volume del sangue (GRIESBACH, GREPPI e RATTI): e del resto, anche la magrezza costituzionale fa apparire più alta la quantità percentuale di sangue rispetto al peso del corpo. I casi 10, 11, 12, 13, 15 erano precisamente suscettibili, per l'aspetto somatico ed i precedenti, di un'interpretazione di questo genere.

Il rapporto con il peso è dunque un criterio generico di orientamento. In ogni modo, per soggetti che non presentino deviazioni molto marcate dallo sviluppo normale del corpo, la quantità totale di Hb. circolante nel sangue corrisponde in media al valore sopra indicato, cioè circa a 1 % del peso corporeo.

#### BILINA: ELIMINAZIONE MEDIA QUOTIDIANA

Le ricerche su questo argomento, oltrechè scarse, fin'ora erano anche notevolmente discordi nei risultati quantitativi, sia per effetto dei metodi adoperati e sia per fattori inerenti alla scelta dei soggetti, al regime dietetico ed all'esame del materiale d'escrezione. In realtà tutti gli autori dopo BRUGSCH e RETZLAFF hanno osservato che la quantità di bilina emessa con le feci si fa più alta — a parità di condizioni — in rapporto con il vitto carneo, e che presenta forti differenze fra campioni diversi di materiale. Spesso poi si trascura di segnare la percentuale di Hb. degli individui esaminati, che può variare assai dall'uno all'altro anche fra soggetti giudicati sani, e regolare quindi in diversa misura, per ciascuno di essi, il processo fisiologico di emolisi.

I primi dati quantitativi sono stati proposti da BRUGSCH e RETZLAFF, per determinazione spettrofotometrica del bilinogeno rivelato dalla reazione con la dimetilamidobenzaldeide (reaz. di EHRLICH): gr. 0,2-0,3 di bilina in media per soggetti normali. Invece EPPINGER e CHARNASS sperimentando con il metodo CHARNASS che è pure fondato sulla reazione con l'aldeide, trovarono valori più bassi, intorno a gr. 0,13; l'EPPINGER conferma questa cifra nel suo trattato (v. pag. 91).

Con tecnica affatto diversa — diluizione dell'estratto fino a scomparsa della fluorescenza data dall'urobilina — ADLER e SACHS riferiscono a loro volta le cifre più alte fra tutte, in media gr. 0,3. Però il loro metodo è sottoposto ad elementi di giudizio troppo subiettivi, e basta notare che il SONNENFELD seguendo un procedimento analogo ha ottenuto risultati inferiori.

La cifra proposta dall'EPPINGER riceve conferma dai due contributi più recenti ed importanti all'argomento: il lavoro di JAKOBS-SCHEFFER, e quello di LICKTENSTEIN-TERWEN. I primi hanno ripreso il metodo di BRUSCH e RETZLAFF, semplificando però la tecnica di ricerca con il sostituire la lettura colorimetrica all'uso della spettrofotometro: in soggetti studiati per molti giorni successivi, a dieta mista d'ospedale, la quantità di bilina eliminata con le feci oscilla intorno ad una media di 100 mg. al giorno. Gli altri autori hanno seguito il nuovo metodo dal TERWEN stesso proposto (v. dopo), in cui il processo di trasformazione della bilina in bilinogeno viene assicurato per opera della miscela riducente (solfato ferroso e idrato di sodio), mentre la lettura del risultato, dopo la comparsa del color rosso dovuto alla reazione con la benzaldeide, è eseguita con il colorimetro di Autenrieth. La ricerca è stata portata su 15 persone sane, a regime libero e per un'intera settimana: la media corrisponde

a 135 mg. per giorno (110 mg. per 100 gr. di feci), però con estremi che passano da 50 a 193. Mancano i dati relativi all'Hb. ed al peso corporeo, che probabilmente potrebbero spiegare in parte le differenze individuali. Il valore medio un po' più alto di quello indicato da JAKOBS dipende per certo, almeno in parte, dalla scelta dei soggetti: là individui rievocati in ospedale, qui persone lasciate a vita comune.

Possiamo — io credo — accettare questi risultati che sono frutto di ricerche sistematiche, compiute da autori diversi con metodi pure differenti fra loro: e tenere come fisiologica una eliminazione di bilina per le feci oscillante fra i mg. 90-150 in media quotidiana, per individui a condizioni normali di crasi sanguigna e di vita.

Sono cifre di massima, che hanno solo un valore relativo. Sappiamo quanti elementi possono influire sul grado della bilinia intestinale: ragioni intrinseche quali la ricchezza in Hb. del soggetto ed il ritmo suo proprio di emolisi, e ragioni contingenti come la dieta e la maniera di vita, queste ultime intervenendo a modificare sia la misura della distruzione sanguigna, sia i rapporti quantitativi, ancora in parte oscuri (vedi dopo), fra l'Hb. posta in libertà nell'organismo ed i radicali pigmentari eliminati con le feci (BRUGSCH-RETZLAFF, JAKOBS-SCHEFFER). Così, per esempio, il vitto prevalentemente carneo, ed anche il vitto più abbondante in genere, aumenta la quantità di bilina (passaggio di gruppi pirolici? stimolazione dell'emolisi?); la vita attiva accelera la distruzione sanguigna, allo stesso modo degli altri processi catabolici.

Io credo anzi che le cifre proposte valgano più precisamente per gli individui tenuti a regime ospedaliero, sia pure senza malattie importanti in atto e con vitto misto comune: motivo di più perchè siano accettate come termini medi normali, opportuni per uno studio che difficilmente può svolgersi fuori degli istituti medici.

Le mie ricerche personali sulla bilina in condizioni fisiologiche sono poco numerose, in confronto dello studio rivolto alla casistica delle anemie; tuttavia concordano con i dati degli altri autori, tenuto conto dei criteri esposti. Offrono inoltre un quadro del ricambio emoglobinico molto più completo, perchè comprendono non solo la determinazione della bilina eliminata ma anche, per la maggior parte dei casi, la quantità percentuale e totale di emoglobina, nonché il peso del soggetto.

Per la ricerca della bilina mi sono servito del nuovo metodo descritto dal TERWEN, che è un procedimento relativamente semplice e sicuro per la riduzione e l'estrazione totale del pigmento allo stato di bilinogeno. Rimando, circa i particolari di tecnica, alla mia nota riassuntiva in « Folia Clinica ».

|   | Caso - Età  | Peso<br>in<br>Kg. | Hb<br>gr. in %<br>di sangue | Volume<br>di<br>sangue | Hb.<br>quant<br>totale<br>gr. | Bilina mmg.<br>pro die |                    | I. E.<br>(indice<br>emolitico) |
|---|-------------|-------------------|-----------------------------|------------------------|-------------------------------|------------------------|--------------------|--------------------------------|
| 1 | R. B. a. 69 | 65                | 15                          | 5450                   | 815                           | 82                     | media per 6 giorni | I=0,8                          |
| 2 | S. S. a. 69 | 51,5              | 13,2                        | 4230                   | 560                           | 90                     | » 3 »              | 1,1                            |
| 3 | E. C. a. 18 | 60                | 14,6                        | 5050                   | 730                           | 96                     | » 3 »              | 1                              |
| 4 | G. E. a. 29 | 72                | 17,2                        | 5220                   | 900                           | 175                    | » 3 »              | 1,3                            |
| 5 | R. A. a. 25 | 56                | 15,7                        | 4300                   | 675                           | 180                    | » 3 »              | 1,8                            |
| 6 | R. L. a. 26 | 70                | 14                          |                        |                               | 104                    | » 3 »              | 0,92                           |
| 7 | O. A. a. 29 | 80                | 14,5                        |                        |                               | 95                     | » 3 »              | 0,8                            |
| 8 | G. A. a. 25 | 56                | 14                          |                        |                               | 45                     | » 3 »              | 0,6                            |
|   |             |                   | media 14,8                  |                        |                               | media 108              |                    |                                |

Vi sono forti differenze individuali nella eliminazione della bilina, che non sorprendono molto dopo quanto si è detto. I soggetti 4 e 5 presentano i più alti valori: sono individui sani, ricchi di Hb. (1,2 % rispetto al peso corporeo), conducono vita libera ed attiva, con dieta abbondante e variata. Gli altri seguono un regime di vita ospedaliera: 6 e 7 sono persone sane, i rimanenti sono ricoverati in clinica per affezioni spente o ridotte in equilibrio, tutti a dieta mista. Nell'ultimo, un diabetico soggetto al trattamento insulinico-dietetico, l'emissione quotidiana del pigmento è apparsa in limiti notevolmente bassi.

La condizione di alcuni soggetti, morbosa sebbene senza speciali ripercussioni sulla crasi sanguigna, spiega perchè le medie della percentuale di emoglobina e della bilina tendano verso i limiti inferiori della norma. Allo stato fisiologico ideale, con valori di Hb. sul 15,5 % e peso corporeo intorno ai Kg. 70, è assai verosimile che anche la quantità giornaliera di bilina si porti verso cifre proporzionalmente più alte. In pratica, possiamo tenere una media di mg. 120 circa con variazioni da 90 a 150.

#### RAPPORTO QUANTITATIVO FRA HB. E BILINA - CICLO VITALE DEL SANGUE

Determinata sperimentalmente la misura della perdita quotidiana di bilina con gli escreti, sorge subito il quesito più complesso: la bilina eliminata sta in rapporto quantitativo con l'emoglobina distrutta?

È evidente che una risposta affermativa segnerebbe una importante tappa nelle conoscenze sulla fisiologia del sangue, colmando la principale lacuna che ha lasciato finora così incerti i limiti quantitativi del ricambio emoglobinico. Basta fare il confronto con altri capitoli del ricambio organico (azoto totale e residuo, acido urico, quoziente respiratorio ecc.) per riconoscere come i progressi compiuti nello studio di questi argomenti siano mossi dall'acquisto di criteri e di metodi che permettono di stabilire un bilancio quantitativo relativamente esatto e riferibile a valori normali. Anche nel caso del sangue, una volta fissate le cifre che dicono la quantità totale di emoglobina presente e l'aliquota soggetta a distruzione giornaliera, si può calcolare facilmente il periodo di vita del pigmento e dei globuli che lo contengono. In altre parole stabilire in termini quantitativi il ritmo del ricambio emoglobinico nelle sue fasi formative e distruttive.

I passaggi chimici fra l'uno e l'altro derivato dell'emoglobina sono ben noti: ematina, bilirubina, bilinogeno stanno fra loro, con buona approssimazione, nel rapporto ponderale di 1:1, come risulta dagli studi del KÜSTER e del FISCHER sulla loro composizione molecolare. L'ematina, a sua volta, corrisponde a circa 4 % del peso di Hb.; resta perciò la semplice equivalenza:

$$1 \text{ gr. bilinogeno} = 25 \text{ gr. emoglobina.}$$

I rapporti biochimici, invece, appaiono assai complessi ed ancora incerti, per la presenza di molteplici fattori capaci di mascherare e modificare le varie tappe per cui passa la trasformazione del pigmento. Se infatti il passaggio dall'ematina, radicale cromatico dell'ossiemoglobina, al pigmento biliare o bilirubina, e poi da questo al bilinogeno intestinale è chiaramente dimostrato sulla base di prove chimiche e fisiopatologiche, è però assai difficile riconoscere il rapporto in tempo ed in quantità secondo cui questi passaggi si svolgono nell'organismo. Non è detto, per esempio, che l'aliquota di Hb. tolta dai globuli per il fatto dell'emolisi vada soggetta in toto

ed in un tempo regolare al processo di scissione della molecola proteica con esito in globina ed in emocromogeno (= ematina ridotta). Una parte del pigmento potrebbe restare più a lungo nell'organismo, specialmente negli organi interessati all'emolisi quali la milza ed il Ret.-End. in generale; e che il fatto avvenga, sia pure in misura quantitativamente poco importante, ne è prova la dimostrazione istologica in quei tessuti di accumuli di pigmento ematico *che non dà la reazione del ferro libero*. Similmente si può pensare per il passaggio dall'ematina alla bilina, con distacco dell'atomo di Fe dal radicale pigmentato.

È pur vero tuttavia che sono limitazioni di un valore più che altro teorico: in realtà l'eliminazione continua ed intensa di pigmento biliare con la bile che defluisce dal fegato, già in condizioni fisiologiche, sta ad indicare che queste prime tappe del processo decorrono probabilmente con un ritmo rapido e regolare, sicchè non c'è ragione concreta per negare — all'infuori almeno di momenti morbosi capaci di ostacolare la funzione del sistema emolitico-biligenetico — un rapporto proporzionato fra Hb. distrutta e Bilirubina (Br) eliminata.

Molto più gravi e concreti sono invece i dubbi intorno alla relazione quantitativa fra bilirubina e bilinogeno. Il giudizio di tutti gli autori, anche dei più antichi, è sempre stato contrario ad ammettere l'equivalenza ponderale fra i due pigmenti, per quanto la mancanza di metodi di ricerca sufficienti rendesse difficile il fornire prove sperimentali in un senso o nell'altro. Se non che vari argomenti sono sopravvenuti a rafforzare l'impressione generale, secondo cui il bilinogeno eliminato con gli escreti deve considerarsi come una frazione della quantità di Br (bilirubina) secreta dal fegato.

Di alcuni ho già fatto cenno altrove («Sul Ric. Hbin.: pag. 48-49»); qui li riassumo, aggiungendo alcune osservazioni più recenti.

1) prove chimiche: mercè la riduzione in vitro della bilirubina, HANS FISCHER è riuscito ad ottenere un corpo cristallizzabile — «mesobilirubinogeno» — che è affatto identico per proprietà chimiche e fisiche all'urobilinogeno. Ora questo corpo corrisponde circa al 50 % in peso della bilirubina trattata, tantochè ha ricevuto dall'autore il nome di emibilirubina. Il residuo amorfo — Sostanza II — non ha un'individualità chimica ben definita, sebbene anch'esso si comporti alla luce allo stesso modo dell'altro (offrono entrambi le proprietà dell'urobilina).

L'osservazione è notevole, tuttavia si riferisce ad un processo profecato in vitro, in condizioni ben diverse da quelle proprie del tubo digerente: non è stata ripetuta nella letteratura.

#### 2) Ricerche sulla Bile.

La quantità di Br. nella bile è stata determinata nell'animale e nell'uomo. I dati più interessanti sono quelli ottenuti dall'EPFINGER nello studio di 3 soggetti con fistola biliare completa: 5-7 mg. di Br. per kg. di peso in media, press'a poco come il valore riferito dallo STADELMANN per il cane (pag. 7). Equivale, in altri termini, all'eliminazione quotidiana di circa gr. 0,4 di pigmento per un uomo del peso di Kg. 70. Calcolando sulla base del sondaggio duodenale, l'EPFINGER avrebbe trovato gr. 0,2-0,25 di bilirubina per due soggetti sani.

Altri autori (BRUSCH-RETZLAFF, ecc.) portano cifre assai più alte: gr. 2 al giorno. Ma sono risultati malsicuri, per le condizioni di esperimento e per i metodi impiegati. I calcoli stessi dell'EPFINGER, fondati sulla determinazione spettrofotometrica della Br., non sono esenti da riserve, causa le incertezze sulla costante d'assorbimento (v. Bioch. Handlexion Band VI, p. 280): inoltre lo stato dei soggetti con fistola è troppo anormale per dedurne criteri circa l'emolisi fisiologica, mentre lo studio del succo duodenale non può servire che come indizio grossolano.

Pur con queste restrizioni, non si può tuttavia negare un certo significato al contrasto sempre manifesto fra quantità di bilirubina nella bile e di bilina nelle feci: quest'ultima è in misura costantemente inferiore alla prima, intorno a gr. 0,12 di bilina contro gr. 0,3-0,4 di bilirubina, cioè circa 1/3.

### 3) Esperimenti d'emolisi

Un interessante tentativo è descritto da JAKOBS-SCHAEFFER nel loro recente lavoro. In un caso di Policitemia rubra, diligentemente studiato dal lato del Ric. Hbico, gli AA. hanno cercato di riconoscere il rapporto quantitativo fra l'emolisi provocata ad arte e l'eliminazione della bilina. Alla somministrazione per os di fenilidrazina, agente emolitico molto noto nella patologia sperimentale, ha fatto seguito una netta e rapida caduta nel numero dei globuli rossi dal valore iniziale di oltre 12 milioni: nello stesso tempo aumentava fortemente la quantità di bilinogeno emessa di giorno in giorno per le feci, mentre l'urobilinuria non variava in misura notevole. Dal confronto dei due dati risulta che, per es., ad una diminuzione di 800.000 gl. rossi per mme. avvenuta dopo un giorno del trattamento, fa riscontro gr. 0,44 di bilinogeno in più del valore medio già determinato. Attribuendo al soggetto i valori medi comuni per la percentuale di Hb. (14% del sangue) e per la massa di sangue (3700 cm.), in base al rapporto ponderale fra bilinogeno ed ematina (1:1) e fra ematina ed Hbina (1:25) risulta:

$$0,44 \times 25 \times 7 = 77 \text{ cm. di sangue} \quad 3700:77 = 48$$

Il bilinogeno eliminato in più corrisponderebbe dunque a 1/48 della massa sanguigna, epperò anche ad 1/48 del numero dei globuli rossi in 1 mme., cioè a circa 270.000 per mme. Senonchè, come si è detto, la diminuzione dei globuli (vale a dire: la perdita di Hb.) era stata assai più forte: 800.000: il numero di globuli calcolato in rapporto con la Bilina — 270.000 — non è che il 34 % della porzione effettivamente distrutta.

In altri termini, l'aliquota di bilina eliminata in più per il fatto dell'emolisi corrisponde soltanto a circa 1/3 della quantità di Hb. distrutta, e verosimilmente anche ad 1/3 della Br. prodotta dal fegato. Gli altri 2/3 rappresenterebbero — secondo gli autori — la frazione di bilinogeno che va soggetta in parte ad ulteriore trasformazione chimica nell'intestino stesso, in parte a riassorbimento nell'organismo.

Se il criterio che ha guidato l'esperimento è giusto, non c'è però chi non veda subito i lati deboli del calcolo, per il valore relativo o addirittura erroneo delle cifre prese in considerazione: così la conta dei globuli rossi, soprattutto in un caso di poliglobulia, non rappresenta certo un elemento sicuro. Anzi, ad esaminare la tabella dei dati (pag. 124) sorprende un fatto contraddittorio cui gli AA. non accennano nella discussione: la percentuale di Hb. non diminuisce in proporzione al numero delle emazie: contro una perdita di 800.000 globuli per mme. fino al 3° giorno, sta solo una discesa da 133 a 130 nella quantità di Hb! E se la provvista di Hb. era così elevata, è senz'altro da rifiutare il rapporto di 14 % fra pigmento e sangue: un valore di Hb. pari a 130 dovrebbe corrispondere a circa 20 gr. di pigmento per 100 di sangue (vedi sopra). Similmente per il volume totale del sangue: anche ammettendo nel soggetto uno stato di pletora apparente, cioè un'iperglobulia da « inspissatio sanguinis » (mancano cenmi sul quadro clinico), è difficile supporre in ogni modo una proporzione di massa sanguigna inferiore perfino alla media normale, dopochè il ricco studio di SEYDERHETM e LAMPE ha dimostrato il comportamento del volume del sangue (frequente *poliemia*) nelle forme di iperglobulia. Non meno di 5 litri di sangue dovremmo attribuire al caso in esame.

La critica dei dati di calcolo toglie dunque molto valore al risultato quantitativo della prova. Questa tuttavia offre una dimostrazione clinica veramente brillante circa i rapporti di grado, se non di misura esatta, fra emolisi e bilinia:

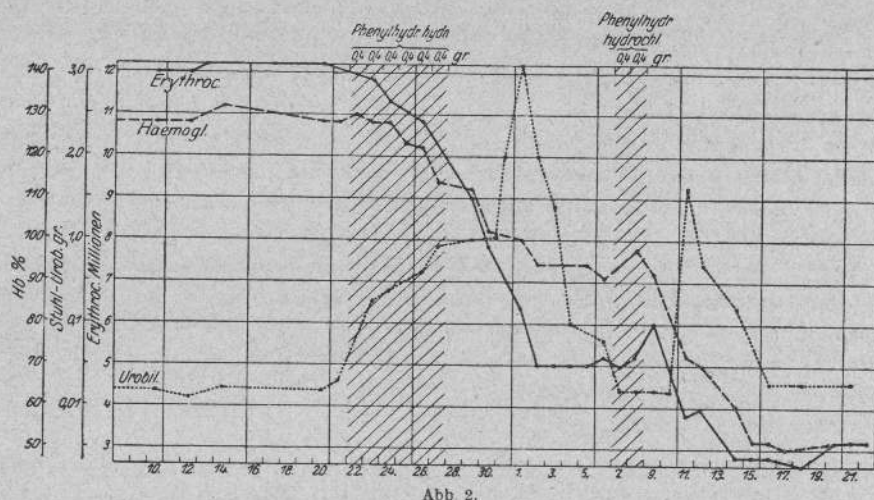


Abb. 2.

La grafica presentata dagli autori mette in luce il forte e rapido aumento della bilina eliminata con le feci (fino a gr. 3,3 in un giorno) in seguito alla distruzione di globuli e di Hb. provocata dalla fenilidrazina. E se il calcolo quantitativo non è accettabile senza riserve, bisogna però riconoscere che una certa sproporzione appare evidente fra la quantità di bilina eliminata e di Hb. distrutta, nel senso di una deficienza della prima rispetto alla seconda.

Io infatti dalle cifre riferite dagli autori tedeschi ho provato a dedurre la perdita totale di Hb. e l'eliminazione complessiva di bilina durante il periodo dell'esperimento emolitico, prendendo per base un volume di sangue pari a 5 litri e calcolando in peso — dai dati colorimetrici — la quantità percentuale e totale di Hb. all'inizio ed alla fine della prova:

all'inizio (22, I): Hb. perc. 133 = gr. 21 % Hb. Tot.: gr. 1050

alla fine (20, II): Hb. perc. 52 = gr. 8 % Hb. Tot.: gr. 400

Totale Hb. distrutta gr. 650

Totale bilina eliminata (in più dell'aliquota normale) gr. 13,21.

gr. 13,21 di bilina corrispondono a gr. 330 di Hb.

Il calcolo è ancora molto grossolano, per il modo con cui sono state fissate le cifre di partenza. Non solo, ma una causa d'errore forse più importante sta nel non poter valutare in nessuna maniera la misura del processo rigenerativo che durante il mese di esperimento si è svolto per certo nel soggetto in esame: è assai probabile che l'apporto in circolo di Hb. neoformata abbia mascherato in parte l'entità effettiva dell'emolisi. Credo dunque di non essere molto lontano dal vero con l'affermare che nell'esperienza di JAKOBS e SCHEFFER — e dati gli elementi di calcolo riferiti dagli AA. — la quantità di Bilina eliminata è inferiore al 50 % della quantità corrispondente alla Hb. distrutta per emolisi.

Un episodio di emolisi provocata si è offerta in istudio a me, come esito particolare di una trasfusione sanguigna in un malato di anemia grave: sebbene il fenomeno fosse inatteso, pure i dati obbiettivi presi durante l'episodio danno una documentazione molto chiara e dimostrativa del Ric. Hbinico. Del resto, l'osservazione di un processo spontaneo è sempre meglio difesa da preconcezioni anche involontari, che non un'esperienza preparata.

Il caso è stato studiato nella nostra clinica il febbraio scorso: si trattava di una forma di splenomegalia emolitica con anemia a tipo pernicioso, in un uomo di 38 anni. Il quadro clinico, molto interessante per i suoi vari aspetti e per il decorso (esito felice della splenectomia), formerà oggetto di studio a parte: qui mi limito all'episodio che ha messo in evidenza il rapporto quantitativo fra bilina ed Hbina.

M. L., muratore; in Clinica dalla fine di gennaio. Durante la degenza, anemizzazione progressiva da emolisi esagerata (iperbilinia fecale, talora anche urinaria; Bilirubinemia elevata), con iperemia e megalocitosi. Il 26-II si tenta la trasfusione di sangue dal fratello: individuo sano: prova dell'agglutinazione crociata negativa; sangue citratato.

Riunisco in tabella i dati ematologici:

Tecnica: Hb. in frazione di 100: colorimetro SAHLI; Hb. in peso per cento di sangue: Appar. e metodo V. SLYKE.

Volume di globuli e di plasma per 100 di sangue: circa 8 cm. di sangue preso dalla vena del braccio, senza stasi, con aggiunta di un cristallino di ossalato; centrifugazione rapida in provetta graduata.

Bilirubina nel siero: il noto metodo della Diazoreazione, secondo V. D. BERGH.

Bilina: determinazione del Bilinogeno secondo il metodo del TERWEX. Feci di 2-4 giorni (ad alvo generalmente regolare), tenute all'oscuro e pesate in massa: estrazione del pigmento di 5 gr. di feci, da 80 cm. d'urina. Lettura colorimetrica, calcolo in unità convenzionali e quindi riporto alla quantità totale degli escreti per conoscere il valore assoluto in mg. di Bilinogeno.

| Data                                                                                                                  | Hb - gr.   | Globuli rossi | Volume glob. | Bilirubina nel siero | Bilina - mg. |       |        | Bilina eliminata in più della media normale preced. |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|---------------|--------------|----------------------|--------------|-------|--------|-----------------------------------------------------|
|                                                                                                                       |            |               |              |                      | Feci         | Urine | Totale |                                                     |
| 26-II-1926                                                                                                            | 5,3 % (35) | 1,400         | 14,3 %       | +                    | 205          | 3 (1) | 208    |                                                     |
| Ore 16: trasfusione endovenosa di cmc. 300 di sangue contenente gr. 16,1 % di Hb (2).<br>Totale Hb iniettata: gr. 48. |            |               |              |                      |              |       |        |                                                     |
| 27-II ore 9                                                                                                           | 5,5 % (35) | 1,430         | 14,4         | +++                  | 205          | 32    | 238    | 30                                                  |
| 28-II                                                                                                                 |            |               |              |                      | 468          | 19    | 487    | 279                                                 |
| 1-III                                                                                                                 | 35         |               |              |                      | 468          | 11    | 479    | 271                                                 |
| 2-III                                                                                                                 |            |               |              |                      | 263          | 9     | 272    | 64                                                  |
| 3-III                                                                                                                 |            |               |              |                      | 263          | 3     | 266    | 58                                                  |
| 4-III                                                                                                                 |            |               |              |                      | 263          |       | 263    | 55                                                  |
| Tot. mg. 762                                                                                                          |            |               |              |                      |              |       |        |                                                     |

(1) Idem per il giorno 25-II.

(2) Sangue del Donatore: Hb gr. 16,1 % - Gl. rossi 5 mm. - Volume dei globuli 45 %.

La trasfusione, operata senza difficoltà, fu seguita dopo circa 3 ore da un modesto elevamento termico (38,3) di breve durata, e da un netto aumento di volume della milza cui si associò discreto dolore spontaneo. Il giorno dopo, il colorito della cute e della sclera offriva una mani-

fešta accentuazione della tinta gialla mentre permamevano apparentemente immutate le note dello stato anemico grave; ed anzi nelle giornate seguenti peggiorarono ancora le condizioni generali, con comparsa di segni di diatesi emorragica, finchè si procedette alla splenectomia il 10 marzo.

La trasfusione dunque, nonchè giovare contro l'anemia, ha provocato una reazione generale sfavorevole, soprattutto influendo sull'atteggiamento della milza che già presentava di per sé segni clinici di una spiccata attività emolitica.

La tavola permette di comprendere quale sia stato l'esito intrinseco della trasfusione dalla mattina successiva alla prova:

- 1) nessun aumento del numero dei globuli rossi, nè del loro volume complessivo;
- 2) un rialzo minimo nella quantità di Hb., appena sopra il limite d'errore tecnico. Perciò anche il tasso Hbico si deve considerare invariato;
- 3) un netto aumento di Br. nel siero. L'intensità della reazione diazoica, a tipo indiretto, ha superato per più del doppio quella ch'era risultata prima della prova (mancano dati quantitativi esatti, per il cattivo confronto cromatico fra la miscela di siero ed il cono campione del colorimetro di AUTENRIETH);
- 4) forte aumento della Bilina urinaria dal primo giorno dopo la trasfusione, e della Bilina intestinale a partire dalle feci emesse il 2° giorno.

Dunque *iperbilina marcata*, a rapida curva ascendente e discendente.

L'interpretazione è chiara: il sangue iniettato è stato rapidamente e totalmente distrutto dall'organismo ospite, per opera dell'attività emolitica della milza che si è esercitata sul sangue estraneo come già prima — secondo il carattere proprio della malattia — agiva sul sangue del paziente. Dopo 16 ore dalla trasfusione, l'Hb. introdotta era già pressochè tutta eliminata dal circolo, probabilmente raccolta nella milza per effetto dell'emolisi e di qui passata al fegato secondo i modi propri del Ric. Hbico. Pleiocromia biliare, rispecchiata dall'afflusso nel sangue di bilirubina in maggior copia come espressione di un sovraccarico funzionale per parte del fegato (parapedesi?). Iperbilina intestinale, con urobilinuria precoce in rapporto al riassorbimento di bilinogeno dall'intestino nel sangue portale: successivamente il sovrappiù di pigmento viene emesso con le feci. In pochi giorni l'eliminazione si è di nuovo ridotta nei limiti precedenti all'esperimento.

Nel nostro caso, l'urobilinuria si è comportata in maniera del tutto parallela alla curva della bilina intestinale, contrariamente a quanto sarebbe avvenuto nell'esperienza di JAKOBS e SCHEFFER. Io qui evito a bella posta questo argomento, così complesso e dibattuto, perchè la sua importanza rispetto al Ric. Hbico è secondaria: nella maggior parte dei casi l'urobilinuria, anche se giudicata intensa al lume delle comuni reazioni di laboratorio, non rappresenta che pochi milligrammi di bilina. Naturalmente, per avere un elemento di calcolo il più vicino possibile al vero si farà la somma delle quantità di bilina emesse con l'urina e con le feci.

La grafica di pag. 16 mette in evidenza il ritmo del processo.

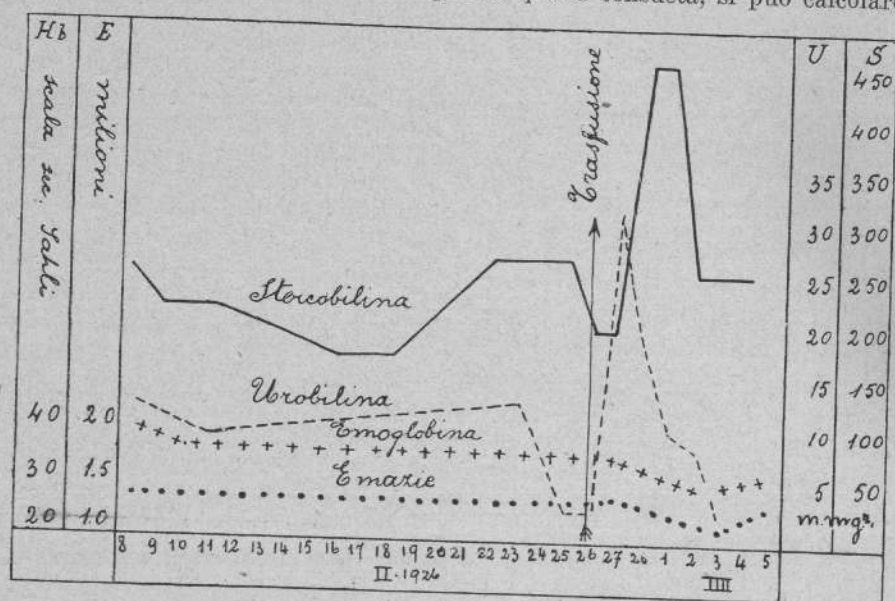
Tali essendo i dati presi durante l'episodio, vediamo ora ciò che più interessa il nostro tema: il rapporto quantitativo fra Hb. e bilina. Come base necessaria per il ragionamento cominciamo ad ammettere che durante i 6 giorni, in cui si è svolta la curva di iperbilina, il processo spontaneo di emolisi a carico del sangue del paziente abbia continuato in una misura equivalente a quella riscontrata subito prima della prova. Potremo così prendere come cifre di partenza le quantità di bilina emessa con le urine dei giorni 25 e 26, con le feci del 26 e 27 (il contenuto delle feci del 27 mattina è da considerarsi senza dubbio come anteriore alla trasfusione compiuta nel pomeriggio del 26): cioè mmg. 208 in tutto. Questo valore rappresenta la parte di bilina derivata dall'emolisi spontanea; il sovrappiù di pigmento eliminato nei giorni seguenti corrisponderà allora all'emolisi provocata per la presenza del sangue trasfuso.

La quantità totale di emoglobina iniettata è calcolabile intorno a gr. 48 (il volume del sangue è stato letto nel recipiente graduato di cui si compone l'apparecchio del Rossi per la trasfusione). Poichè il volume totale del sangue del nostro caso, determinato con il metodo del rosso congo, equivale a cem. 4200, si doveva trovare:

$$48 : 42 = \text{gr. } 1,17 \text{ in più di Hb. \% di sangue.}$$

Invece, come abbiamo visto, la percentuale di pigmento e di globuli non ha variato dopo la prova, cosicchè praticamente siamo in diritto di pensare che l'Hb. introdotta sia stata distrutta in totalità.

La quantità di bilinogeno emessa in più di quella consueta, si può calcolare gros-



solanamente intorno a mmg. 760. Per il rapporto ponderale di circa 1:1 fra bilinogeno ed ematina, e di 1:25 fra ematina ed emoglobina, otteniamo:  $\text{gr. } 0,76 \times 25 = \text{gr. } 19 \text{ di Hb.}$

La bilina eliminata corrisponde dunque al 50 % dell'emoglobina distrutta per emolisi.

Al ragionamento così condotto si può muovere subito un'obiezione notevole: l'aliquota di bilina che rappresenta l'emolisi normale nel soggetto (mmg. 208 pro die) è stata calcolata sulla base del valore trovato per gli escreti dei due giorni precedenti la curva (26-27). Però le determinazioni anteriori, anche di pochi giorni prima, davano cifre più alte: la media per i 15 giorni precedenti (vedi grafica) sarebbe pari a mmg. 235. Se portiamo a questa misura il coefficiente dell'emolisi spontanea anche durante il periodo della trasfusione, resta un sovrappiù di bilina che corrisponde a, circa mmg. 610 in tutto, pari a

$$\text{gr. } 0,61 \times 25 = \text{gr. } 15,3 \text{ di Hb.}$$

La bilina eliminata corrisponde allora al 32 % dell'Emoglobina distrutta.

Anche dopo questa correzione, si capisce che le cause d'errore esistono sempre, e numerose: p. es. quelle relative al metodo per la ricerca del bilinogeno, che non può pretendere l'esattezza assoluta. Inoltre le determinazioni sugli escreti sono state interrotte quando ancora la curva del pigmento, sebbene già riabbassata, non era forse

del tutto esaurita. Di contro sta il criterio convenzionale di considerare costante il processo di emolisi spontanea: può darsi, in verità, che il brusco squilibrio provocato dalla trasfusione abbia contemporaneamente eccitato il quadro morboso primitivo, e sta il fatto che nei giorni seguenti l'anemia andò aggravandosi. Non è poi da dimenticare un'altra eventualità: il permanere nei tessuti, e per eccellenza nella milza, di una porzione dell'Hb. sottratta al sangue circolante, prima della successiva metamorfosi in pigmento biliare.

Tutti argomenti che, in diversa misura, obbligano a limitare il valore dell'esperienza per ciò che riguarda i risultati quantitativi. Ma pur fatte le più severe riserve, non si può tuttavia negare che questo episodio emolitico, oltreché illustrare in modo brillante le basi dottrinarie del ricambio emoglobinico, offre anche elementi notevoli intorno ai rapporti ponderali fra bilina ed emoglobina. Il risultato del calcolo si avvicina infatti sensibilmente a quanto già gli altri argomenti riferiti — la prova in vitro, la ricerca della Br. nella bile, l'esperimento emolitico di JAKOBS e SCHEFFER — facevano ritenere verosimile: *la quantità di bilina eliminata con gli escreti non equivale ponderalmente alla quantità di Hb. distrutta nell'organismo, ma corrisponde soltanto ad una frazione inferiore alla metà*. Anche nel caso da me studiato, la media fra i due calcoli compiuti sui valori massimo e minimo si può portare intorno al 40 %.

Ecco dunque che all'antico quesito circa i rapporti fra bilina ed emoglobina, si oppone ancora una volta, e su nuovi dati clinico-sperimentali, una risposta in parte negativa: dimostrato pienamente il fatto fondamentale — il variare parallelo della bilina intestinale con il grado di emolisi — non si può però riconoscere un'equivalenza ponderale fra l'uno e l'altro pigmento. Questo fa sì che — fermo restando il valore clinico dell'argomento — è tuttavia ancora difficile colmare la lacuna di cui il Ric. Hb. nico soffre in confronto con altri capitoli di Biochimica: la mancanza di termini quantitativi relativamente esatti, su cui stabilire il periodo vitale del pigmento e dei globuli.

Si comprende come i calcoli sinora tentati per conoscere la misura dell'emolisi ordinaria e quindi la vita media dei globuli rossi, non abbiano base sufficiente: ed infatti discordano assai fra di loro.

Già il QUINCKE aveva fissato intorno a 30 giorni il ricambio totale del sangue. L'EPHINGER di poi, partendo dai valori trovati per la bilirubina nella bile, calcolava un periodo normale di circa 37 giorni: 2,7 % di Hb. verrebbe distrutto quotidianamente.

BRUGSCH e RETZLAFF abbreviano notevolmente la vita dei globuli: circa 15 giorni. Ed ancor più rapido avverrebbe il ricambio del sangue secondo JAKOBS e SCHEFFER: soltanto 10 giorni in media. L'emolisi quotidiana, in un soggetto normale, colpirebbe dunque il 10 % della provvista di pigmento!

I primi calcoli lasciavano già in dubbio alcuni autori, p. es. il MORAWITZ e lo stesso BRUGSCH nel *Trattato* diretto dal KRAUS e da lui, in quanto che un ritmo così vivace per il ricambio emoglobinico sembrava poco consono con l'economia generale dell'organismo e con le conoscenze fisiologiche sulla rigenerazione del sangue. Gli ultimi mi appaiono senz'altro assurdi: per 100 mmg. di Bilina, presi da JAKOBS-SCHEFFER come media normale e da loro stessi considerati pari a circa il 40 % della quantità reale di pigmento eliminato con la bile, cioè corrispondenti a gr. 0,25, si ottiene:

$$\text{gr. } 0,25 \times 25 = \text{gr. } 6,25 \text{ di Hb.}$$

Come è possibile dunque « dass täglich etwa der zehnte Teil der Gesamtblutmenge ausgeschieden wird? (pag. 134) ». Del resto, basta pensare alla limitata estensione che

la natura assegna al midollo osseo funzionante nell'uomo adulto e sano, per non restare senza perplessità davanti a calcoli siffatti.

LICHTENSTEIN e TERWEN per parte loro, e pur non dissimulando le cause d'errore inerenti alle varie tappe del ricambio emoglobinico, si accontentano di considerare la Bilina in equivalenza con l'Emoglobina: data una media normale di 150 mmg. di bilina, il ricambio del sangue si compirebbe in circa 140 giorni. Dopo quanto si è detto sui rapporti fra i due pigmenti, il ragionamento non è accettabile.

Si noti ancora che questi calcoli hanno tutti per base valori di massa di sangue e di Hb. totale diversi da quelli ottenuti con le indagini più recenti: in generale, senza distinzione di soggetto, si parla di cem. 3500-3700 di sangue per un uomo di Kg. 70, e di gr. 490 di emoglobina.

Prendendo per base le nuove cifre meglio documentate, e ragionando per la bilina secondo il rapporto probabile del 40 % si arriva ad assegnare al ricambio Hbinico — in via di approssimazione grossolana — i limiti indicati nel seguente esempio:

uomo adulto, sano, di peso normale rispetto alla statura. Per Kg. 70 di peso, cem. 5000 di volume totale di sangue: gr. 750 circa di Hb. Un'eliminazione giornaliera media di mmg. 120 di bilina corrisponde a:

$$\frac{120 \times 100}{40} = \text{mmg. } 300$$

$$\text{gr. } 0,30 \times 25 = \text{gr. } 7,5 \text{ di Hb.}$$

Per mmg. 150 di bilina, pari a mmg. 375 sul rapporto di 40 %, si ottiene:

$$0,375 \times 25 = \text{gr. } 9,4 \text{ di Hb.}$$

Nel 1° caso 100 giorni, nel 2° 80 rappresenterebbero il periodo vitale del sangue. Il valore inferiore è probabilmente più vicino al vero, quando si pensi alle varie cause che possono agire nel senso di sottrarre all'eliminazione sotto forma di Bilina una parte dell'Hb. tolta dal circolo, mentre d'altronde — come abbiamo visto — le condizioni di vita attiva tendono ad aumentare di per sé la quantità di Bilina escreta.

Non vale la pena, ad ogni modo, di insistere nel tentativo di precisare nei termini più esatti possibili la durata dei globuli rossi ed il ciclo globale del Ric. Hb., dato che il risultato è compromesso a priori dalla mancanza di alcuni elementi indispensabili come base del calcolo. In via generica, non saremo molto lontani dalla verità con l'attribuire al globulo rosso una durata di circa 80 giorni, allo stato normale: l'emolisi quotidiana equivale allora a 1,3 % della quantità totale di Hb. circolante.

La sopravvivenza dei globuli introdotti in un soggetto per mezzo della trasfusione, è stata calcolata da vari autori intorno a 3-4 settimane (ASHBY), nel caso naturalmente di buona tolleranza da parte dell'ospite verso il sangue estraneo. La durata delle cellule trasfuse è però con grande probabilità assai più breve di quelle normali, per la tendenza generale, ben manifesta anche dopo le trasfusioni di sangue omologo, che muove l'organismo ad eliminare e sostituire gli elementi e le sostanze estranee (WEICHSEL, WILDEGANS).

E certo poi che in condizioni morbose il ritmo del ricambio emoglobinico può venire accelerato in misura straordinaria, fino agli estremi osservabili nelle emopatie emolitiche: di questo riferirò nella nota sul comportamento del sangue nelle anemie.

#### INDICE EMOLITICO

Dal momento che la bilina permette « un giudizio di grado, non di quantità », ai fini della clinica giova cercare di rappresentare questa relazione nella forma più semplice e nello stesso tempo espressiva, tale che segni *come indice* il variare d'inten-

sità del fenomeno. I nuovi metodi per la determinazione in peso del bilinogeno, p. es. quello del TERWEN, offrono il vantaggio di dare per risultato valori quantitativi con i quali riesce facile comporre un indice su dati numerici.

Teoricamente, nessun modo di rappresentazione del ricambio Hbinico sarebbe accettabile che non tenesse conto della provvista totale di emoglobina del corpo, oltrechè della porzione di pigmento periodicamente distrutta. In pratica però si urta contro la difficoltà di arrivare a conoscere questo valore per tutti i casi con tecnica spedita; conviene allora limitarsi a dati accessibili.

Il « Blutmauserungskoeffizient » del SONNENFELD — rapporto fra quantità di ematina e quantità di bilina riportata a gr. 500 di feci in media — è inadatto all'uso pratico appunto per la ragione detta. Similmente lo « Index von Blutmauserung » secondo LICHTENSTEIN e TERWEN, che è il rapporto fra il periodo di vita del sangue normale (140 giorni, vedi sopra), e quello calcolato per il soggetto in esame.

I medesimi autori, in seguito, propongono un criterio molto più semplice e diretto, che anche a mio parere risolve l'intento nel miglior modo oggi possibile.

Prendendo come termini: 1) il peso del soggetto, 2) la percentuale di Hb, 3) la quantità di bilina delle 24 ore; e riportando ciascuno di essi al valore corrispondente per l'individuo normale, con il prodotto di questi tre rapporti si ottiene una cifra che può essere assunta come *Indice emolitico*: che sarà pari o prossima ad 1 per i soggetti normali, più elevata (5-10 ed oltre) per effetto di forte emolisi, ed inferiore invece nei casi di rallentata distruzione:

P = peso di Kg. (70 per individuo normale);

Hb. = Emoglobina percentuale (normalmente 100 di un Hbinometro regolato per un valore standard di gr. 15,5);

B = Bilinogeno totale (feci ed urine) in mmg. (120 circa al giorno, media comune);

I = Indice emolitico

$$I = \frac{70 \cdot 100}{P} \times \frac{B}{Hb.} \times \frac{1}{120}.$$

Gli autori tedeschi tengono 150 mmg. come valore normale per il bilinogeno, che però non concorda neppure con la media da loro stessi riferita (mmg. 135). La cifra di 120 rappresenta la media fra i dati più recenti proposti dai diversi autori, comprese le mie ricerche. Io l'ho assunta per calcolare l'Ind. emol. nei casi raccolti nella tabella a pag. 465, in cui l'Hb. è stata determinata direttamente in peso con il metodo V. SLYKE.

Il criterio informatore seguito da LICHTENSTEIN e TERWEN è veramente giusto e raccomandabile, sia per la semplicità dei dati richiesti, sia per il significato espressivo della formula che ne risulta. Il riferimento della percentuale di Hb. al peso corporeo tende a ristabilire, per quanto in via indiretta e relativa, il rapporto fra la quantità totale di pigmento e l'alknota distrutta, a sua volta rappresentata dalla quantità di bilina. In questo modo il calcolo muove su elementi individuali, e rispecchia con buona evidenza — se non con assoluta fedeltà — il procedere reale del processo emolitico. In condizioni morbose, quali soprattutto le emopatie dovute od associate a forte distruzione di sangue, l'Ind. Emol. può segnare di fase in fase lo stato della erasi sanguigna, così da rendere apprezzabile la curva del fenomeno, in rapporto con le variazioni della malattia. Nell'anemia perniciosa, nell'ittero emolitico, nelle sindromi spleno-emolitiche più o meno riconducibili a diagnosi meglio definite, l'emolisi presenta alti e bassi cui corrispondono momenti manifesti di aggravamento e di remissione: l'indice emolitico esprime questi momenti con un dato obbiettivo che

ha valore di misura indiretta. Per esempio, nel caso di splenomegalia emolitica di cui abbiamo studiato il comportamento alla trasfusione di sangue, l'emolisi morbosa persistette, con oscillazioni su limiti sempre alti, durante la degenza in Clinica, per cadere nettamente subito dopo la splenectomia: ebbene, l'indice da valori superiori perfino a 10 nel primo periodo, è disceso dopo l'operazione a poco più di 1, tenuto conto delle differenze intervenute nel peso corporeo e nella quantità di Hb.

Si capisce che ogni elemento del calcolo va interpretato con criterio realistico. Così il peso del soggetto può essere lontano dalla proporzione normale per forte accumulo di adipe o per dimagrimento marcato: la quantità di bilina eliminata, essendo in rapporto con la provvista totale di emoglobina del corpo, potrà allora apparire in contrasto con il peso, allo stesso modo come avviene per il volume totale del sangue (vedi sopra).

Più importante è la determinazione del fattore emoglobina: il termine 100 della scala dei comuni emoglobinometri può essere accettato come cifra base soltanto se riconosciuto equivalente al valore medio, in peso, del sangue normale (gr. 15,5), quando non si ricorra ai metodi quantitativi diretti (metodo V. SLYKE, BARCROFT, ecc.).

Occorre insomma un apparecchio con miscela campione regolata sullo standard normale, sul tipo del SAHLI originale: naturalmente l'uso di un apparecchio gasometrico ormai molto noto e comune negli istituti medici, come quello del V. SLYKE, offre sicurezza di gran lunga maggiore.

In quanto finalmente alla ricerca della bilina, i metodi di estrazione e determinazione quantitativa mediante lettura colorimetrica, proposti recentemente da JAKOBS-SCHEFFER e dal TERWEN, possono essere organizzati e seguiti senza alcuna difficoltà speciale, laddove si abbia interesse allo studio più esatto del ricambio emoglobinico. La mia esperienza personale sul metodo del TERWEN è del tutto favorevole al suo impiego nelle ricerche cliniche. Sul valore assoluto del risultato finale è bene fare qualche riserva, in attesa che abbiano conferma i tentativi chimici miranti ad isolare il bilinogeno allo stato puro: ma il significato dell'indice emolitico non resta compromesso anche se qualcuno degli elementi costitutivi si riveli imperfetto e lontano dall'esprimere il fenomeno quantitativo esatto, purché i dati siano comparabili gli uni agli altri in una proporzione costante.

L'Ind. Emol., composto con i criteri e sugli esempi suaccennati, rappresenta insomma una base di giudizio relativamente semplice ed obbiettiva per il ricambio emoglobinico.

## CONCLUSIONI

Gli elementi di giudizio per il Ric. Hbinico sono: la quantità totale del pigmento sanguigno, la quantità di Hb. quotidianamente distrutta.

La percentuale di Hb. nel sangue, determinata con l'apparecchio di V. SLYKE, corrisponde in media a gr. 15,5 in condizioni fisiologiche. La quantità totale di pigmento per 5 litri di sangue, presenti in media in un uomo adulto del peso di 70 Kg., è intorno a gr. 750, cioè circa 1 % rispetto al peso corporeo.

Alcuni metodi recenti rendono facile la determinazione quantitativa, in peso, del bilinogeno. La cifra media giornaliera, per uomo adulto sano, s'avvicina a mg. 120 (90-150).

Non si può ammettere un'equivalenza ponderale fra bilina eliminata ed Hb. distrutta. Gli esperimenti clinici di emolisi provocata valgono invece a dimostrare, concordi con altre ragioni, che la prima rappresenta una frazione del valore che

corrisponderebbe alla quantità di Hbina: frazione stimabile grosso modo intorno al 40 %.

L'emolisi media quotidiana, desunta approssimativamente dal grado di bilinia, può calcolarsi pari a circa gr. 9 di Hb., ciò che significa un periodo di 80 giorni come durata vitale dei globuli rossi.

In pratica basta prendere i 3 elementi: peso del corpo, percentuale di Hb., quantità di bilina media giornaliera, e riferirli ai corrispondenti valori normali, perchè ne risulti un termine numerico che rispecchia l'entità della distruzione sanguigna nel soggetto. È « L'Indice Emolitico », pari ad 1 per definizione allo stato normale, superiore ad 1 (fino a 10-15 e più) nelle anemie con emolisi esagerata. Di facile attuazione, segna chiaramente l'importanza del fattore distruttivo nella fisiologia del ric. Hbinico.

#### BIBLIOGRAFIA

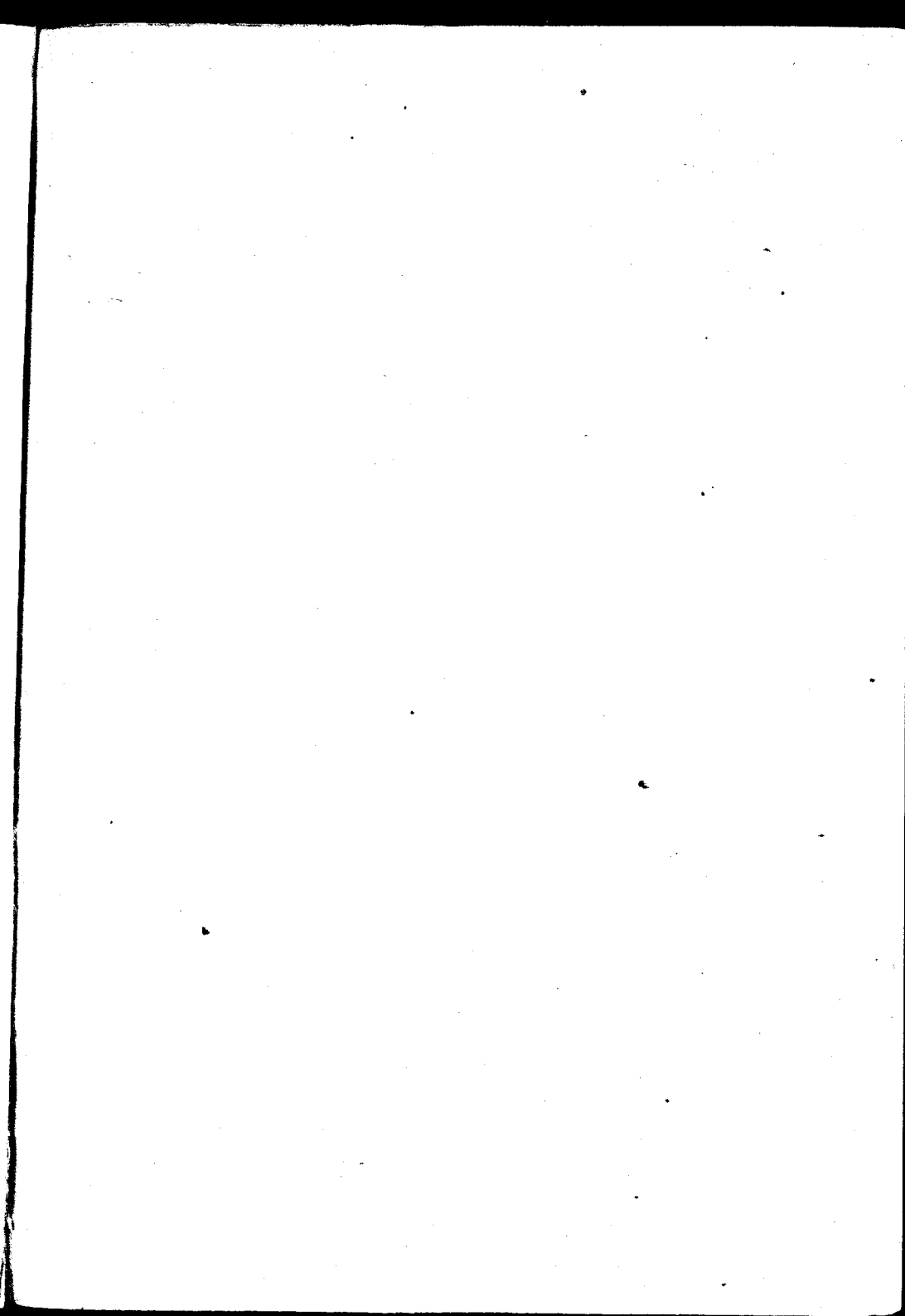
- ADLER u. SACHS: Über Urobilin. Zeit. f. d. ges. exper. Medizin 31, 1923. — ASHEY: Blood Volume. Arch. of int. med. 35, 1925. — BEANIS-ADUCCO: Elem. fisiol. umana, vol. I, 1901, Torino. — BRUGSCH u. RETZLAFF: Blutzerfall, Galle u. Urobilin, Zeit. f. exper. Path. u. Ther., Bd. 9, 1912. — CHARNASS: Quant. Best. d. roin. Urobil., Bioch. Zeits. 20, 1909. — EPPINGER: Die Hepato-lienalen Erkrankungen, pag. 40-116, Berlin, 1920. — FISCHER: Zur Kenntnis der Gallenfarbstoffe. Zeit. f. phys. Chemie 73-75-79, 1911-1914. — GREPPI: Anemie aplast. e pseudoaplast. Arch. Patol. e Clin. Med. V, IV, 1925. — Sul ricambio emoglobinico. I problemi della nutrizione, 1924. — La determ. quantitativa dell'Emoglobina med. il metodo V. Slyke, Bollettino Società med.-chir. di Pavia, 1924. — « Il metodo del Terwen per la determinazione quantitativa della Bilina ». — Folia Clinica Chimica et microscopica, vol. I, fasc. 2, 1926. — Massa tot. d. sangue o volume del plasma? Arch. Patol., Clin. Med., IV, 1925. — GREPPI e RATTI: La determ. d. massa circol. d. sangue con il metodo del Rosso Congo. Cuore e Circolazione, 1924. — GORKE: Das Verhalten d. Milz u. Knochen, bei der aplast. Anämie. Deut. Arch. f. Klin. Med. 136, 1921. — HADEN: The normal Hemoglobin standard. Jour. Am. Med. Ass., 79, 1922. — The need for a fixed Hemogl. standard. Jour. Labor. a. Clin. Med. XI, 1926. — HALDANE: The colorim. determ. f. Hemoglob. Jour. of Physiol. 26, 1900. — HANSMANN a. HOWARD: Vrobil. of stool a. urine in pern. Anaemie. Jour. Amer., Med. Ass. 1919. — KRAUS-BRUGSCH: Spez. Pathol. u. Ther. Bd. VIII, p. 693, Berlin, 1920. — KÜHL: Arch. f. exper. Pathol. u. Ther., Bd. 103. — JACOBS u. SCHAFFER: Quantit. Urobilinogenbestim. im Stuhle. Zeit. ges. exp. Med. 44, 1924. — LICHTENSTEIN u. TERWEN: Ueber Blutmauserung u. Urobilinausscheid. Deut. Arch. Klin. Med. 149, 1925. — LINDSAY-RICE-SELINGER: A plea for a standardiz. method of estimating a reporting Hemogl. values. Jour. Lab. a. Clin. Med. XI, 1926. — MORAWITZ: Ein n. Anschauung. üb. Blutregeneration. Ergebn. inn. Med. XI, 1913. — OSGOOD: Hemoglob., Color im. standards. Arch. int. Med. 37, 1926. — PLESCH: Hamodynamische Studien, pag. 76, Berlin, 1909. — Untersuch. üb. d. Physiol. u. Path. d. Blutmenge. Zeit. Klin. Med. 93, 1922. — PIETRA: Il Ricambio emoglobinico in rapporto alle varie forme di itteri. Arch. Patol. e Clin. Med., Vol. IV, 1925. — RATTI: Rassegna crit. dei met. per misurare la massa del sangue. Arch. Patol. e Clin. Med. IV, 1925. — ROSSI: La trasfusione sanguigna. L' Osped. Maggiore, Milano, 1924. — SEYDERHELM u. LAMPE: Blutbestim. u. ihre klin. Bedeut. Ergebn. inn. Med. u. Kinderh. 27, 1925. — V. SLYKE: Gasometrie determ. of the Oxygen. Jour. Biol. Chem. 33, 1918. — SONNENFELD: Bilanz d. Blutstoffwechsels bei perniziöser Anämie. Zeit. f. Klin. Med. 100, 1924. — Blutuntergang u. Gallenfarbstoffbildung. Klin. Woch. 1923, n. 46. — TERWEN: Ueber ein n. Verfahren z. quant. Vrobinbest in Harn u. Stuhl. Deut. Arch. Klin. Med. 149, 1925. — WEICKSEL: Stoffwechselunters b. bluttransfund. Perniziösen, Zeit. f. klin. Med. 102, 1925. — WILDEGANS: Lebensdauer direkt. transfund. Erythrocyt. Klin. Woch., 1926, n. 21. — WILLIAMSON: Arch. of intern. med., 18, 1916. — ZOJA: Ueber d. Hamogl. Stoffwechsel... Folia haematol. XII, Arch. 1911. — Le iterizie. Cappelli, Bologna, 1923.











# ATTUALITÀ SCIENTIFICHE

Collezione diretta dal Prof. G. VIOLA

1. **Forme dell'attività diagnostica** del Prof. VIOLA. In-8 di pag. 30  
L. 3 —
2. **Il Refrattometro ad uso clinico** del Prof. SCHIASSI. In-8 di pag. 44  
L. 4 —
3. **La Terapia specifica della sifilide viscerale** del Prof. CESA BIANCHI.  
In-8 di pag. 60 . . . . . L. 5 —
4. **La Clinica come scienza dell'individuale e la sua posizione nella  
gerarchia delle scienze** del Prof. VIOLA. In-8 di pag. 30 . L. 3 —
5. **Fattori esterni de la costituzione** del Prof. RONDONI. In-8 di pag. 24  
L. 3 —
6. **Le itterizie** del Prof. ZOJA. In-8 di pag. 42 . . . . . L. 4 —
7. **La fototerapia** del Dott. C. PATRIZI. In-8 di pag. 54 . . . L. 5 —
8. **L'Artritisismo rassegna di patologia costituzionale** del Dott. BENEDETTI.  
In-8 di pag. 40 . . . . . L. 5 —
9. **Le cinque incognite fondamentali del problema clinico** del Prof.  
N. PENDE. In-8 di pag. 12 . . . . . L. 3 —
10. **La polimiosite acuta o dermatomiosite** del Dott. A. SEGA. In-8 di  
pag. 40 . . . . . L. 5 —
11. **Gli abiti costituzionali fondamentali e la legge universale che li  
determina** del Prof. G. VIOLA . . . . . L. 4 —
12. **La Medicina organismo scientifico unitivo** del Prof. G. VIOLA. In-8  
di pag. 16 . . . . . L. 3 —
13. **Patogenesi e anatomia patologica della tisi polmonare** del Prof. A.  
PEPERE. In-8 di pag. 20 . . . . . L. 4 —

**Prezzo L. 4**