



*Al chiarissimo Prof. Ascoli V. con  
omaggi e auguri*

Ospedale Civile di Ascoli Piceno

I più recenti metodi per la diagnosi del cancro dello stomaco  
e ricerche sulla reazione biologica

**Dottor Santini Alfredo**

Medico Comprimario.

*Estratto dalla Riforma Medica, Anno XXII, N.*



NAPOLI

STAB. TIP. DELLA CASA EDITRICE E. PIETROCOLA

SUCCESSORE P. A. MOLINA

Via Portamedina alla Pignasecca. 44

1906

*Misc. B. 47.24*



Ospedale Civile di Ascoli Piceno

---

I più recenti metodi per la diagnosi del cancro dello stomaco  
e ricerche sulla reazione biologica

---

**Dottor Santini Alfredo**

Medico Comprimario.



*Estratto dalla Riforma Medica, Anno XXII, N. 12*

---

NAPOLI

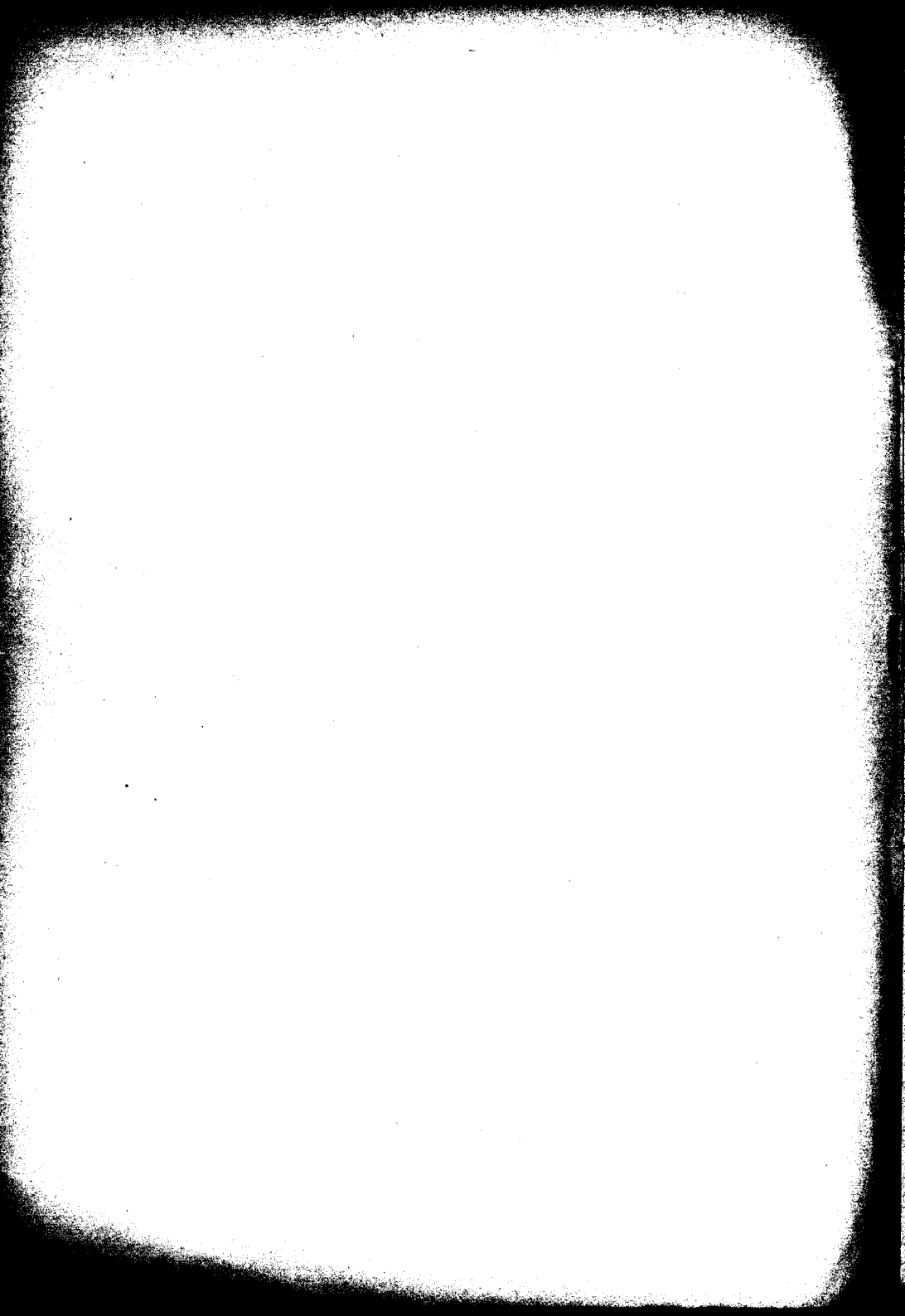
STAB. TIP. DELLA CASA EDITRICE E. PIETROCOLA

SUCCESSORE P. A. MOLINA

Via Portamedina alla Pignasecca, 34

1906

*Alf. Santini*  
*03*  
*21*



---

La Medicina Interna in questi ultimi tempi si è andata con particolare interesse occupando dei mezzi diagnostici del carcinoma dello stomaco, argomento che ha assunto importanza altamente pratica di fronte ai progressi e perfezionamenti della chirurgia operatoria, che, fino al giorno d'oggi, è l'unica risorsa terapeutica, di cui il medico può disporre contro il neoplasma, con qualche speranza di guarigione.

Occorre però perchè all'intervento operatorio efficace si possa ricorrere, che la diagnosi sia quanto più possibilmente sollecita, precoce secondo il termine usato, per affidare il malato al chirurgo prima che questi possa rispondere che è troppo tardi.

Le ricerche sull'esame fisico dello stomaco, sulle alterazioni del suo chimismo, sulla funzione motrice, sullo esame istologico del contenuto, hanno per lunghi anni consumato lo studio della semiologia gastrica ed a tali ricerche omai si può dire che resta poco più a chiedere, mentre sulla base di esse non si ha ancora la possibilità di diagnosticare nel più dei casi difficili, con sicurezza la presenza del neoplasma e tanto meno di sorprenderla nello stato iniziale del suo impianto, ciò che soprattutto interessa per lo scopo supremo della cura da affidarsi senza indugio all'opera del chirurgo.

Fra i sussidii diagnostici meno recentemente aggiunti alla semiologia del cancro dello stomaco, giova appena ricordare quello della ricerca della mancanza della iperleucocitosi digestiva fisiologica, secondo le osservazioni fatte per primo da Dupérieré e controllate in seguito da

Schnejer, Ascoli V., Hoffmann, Capps, Ossler e Macrae ed altri, i quali confermarono che tale alterazione leucocitaria si riscontra con abbastanza frequenza nel carcinoma gastrico; ma da numerose altre ricerche (Marchetti, V. Ascoli, Hassman, Hartung, Ossler-Macrae, Douglas, Cabot, Sansoni, etc.), fu però anche ormai a sufficienza dimostrato che la mancanza della iperleucocitosi digestiva si riscontra in diverse altre malattie non riferentesi allo stomaco e perfino in individui sani, come pure in altre gastropatie oltre quella cancerigna, nella quale ultima il sintoma ad ogni modo è abbastanza tardivo: di guisa che la sua presenza non è costante, il suo significato molto relativo e soprattutto non di valore per il principale intento di una diagnosi precoce.

In questi ultimi anni vennero suggeriti altri nuovi metodi di indagine diagnostica pel cancro dello stomaco, fra i quali la maggiore importanza fu acquistata dalla prova proposta da Salomon ormai divenuta abbastanza familiare nelle ricerche della Clinica e dell'Ospedale. Il valore del metodo di Salomon riposa sulla premessa fatta da lui, che dalla massa neoplastica venga riversato un liquido albuminoso, il quale si ricerca nello stomaco sottoposto prima ad un perfetto lavaggio, poi ad un pasto di prova privo di sostanze proteiche, poi a nuove lavande e dopo alcune ore di digiuno ad un ultimo lavaggio con 300-400 cc. di soluzione fisiologica. Su quest'ultimo liquido così estratto si fa la ricerca dell'albumina col reattivo di Esbach o con acido nitrico e la distillazione di Kieldhall. La ricerca positiva di queste due sostanze starebbe a deporre per l'esistenza del neoplasma gastrico.

Se non che è stato già osservato da Sigel che anche nella gastrite cronica e nella ulcerazione semplice del ventricolo, in semplici nevrosi, la prova può riuscire positiva, quindi il valore del metodo di Salomon comincia ad essere già abbastanza scosso, senza contare che per avere questo versamento di liquido albuminoso dal tumore sullo stomaco, occorre già uno stato ulcerativo del neoplasma, la cui diagnosi riesce così ad ogni modo abbastanza tardiva.

. Io ebbi occasione di sperimentare il metodo di Sa-

Lo *mon* in qualche malata della Clinica medica di Siena nella sezione donne alla quale mi trovavo addetto nel 1904, oltreché in un malato della sezione uomini e in qualche altro caso del reparto maschile di questo Ospedale, saggiando però il liquido di lavaggio gastrico solamente con il reattivo di Esbach o con acido nitrico, senza eseguire la distillazione dell'azoto: ma in compenso unitamente alla reazione dell'albumina eseguii anche quella del biuretò, per eliminare il dubbio che l'eventuale presenza delle sostanze proteiche non sfuggisse alla ricerca per avvenuta peptonificazione delle medesime.

I casi su cui ho sperimentato in complesso sono in numero di 8.

Tre di essi, due donne ed un uomo, si trattava di un carcinoma indubbio dello stomaco e la prova riuscì in tutti e tre positiva, discretamente sensibile in due, molto debole nel terzo.

In altri 4 casi era assolutamente da escludersi la presenza o il sospetto di carcinoma e la prova di *Salomon* riuscì positiva, ma debolissima, in uno di essi, cioè in una giovane clorotica sospetta di ulcera gastrica; negli altri tre casi, una malata di epilessia jacksoniana, una convalescente di angiocolite catarrale, un nevrastenico con catarro gastro-intestinale, fu negativa al pari che in una donna (Nanetti, S. num. 98 donne Cl. med. Siena), in cui la diagnosi restò sul principio molto difficile e dubbia sulla esistenza di un carcinoma gastrico: questa malata fu poi in seguito passata nella clinica Chirurgica, dove fu operata di nefrectomia.

Questi otto casi di mia osservazione confermerebbero adunque la presenza della prova positiva di *Salomon* nel carcinoma dello stomaco, il caso però della clorotica con sospetto di ulcera gastrica ne infirma la specificità al pari delle osservazioni di Sigel sopra ricordate, e, tenuto conto del risultato di reazione positiva che quest'ultimo ebbe anche in casi di semplice gastrite cronica, si può cominciare a dubitare che a questa prova di *Salomon* possa mancare anche il valore diagnostico generico di uno stato ulcerativo dello stomaco, di modo che di tale prova, sebbene non trascurabile, sembra già che si debba usufruire con un criterio molto relativo per la diagnosi di cancro dello stomaco come di tutti gli altri mezzi di

cui fin qui la semiologia dispone. Relativamente poi al suo significato per la diagnosi precoce del tumore, ho già sopra notato che per avere il gemizio di liquido albuminoso del neoplasma, occorre necessariamente che esso sia già ulcerato, quindi in una fase già avanzata. Nei miei tre casi riferiti, difatti, si trattava in tutti di forme inoltrate e a diagnosi ben conclamata.

A colmare uno dei lati deficienti della prova di Salomon, allorchè da questa si sia potuta indurre l'esistenza di una ulcerazione gastrica, un altro metodo può essere utile, recentemente proposto da Gluzinski, il quale servirebbe specialmente a differenziare in epoca abbastanza precoce l'ulcera semplice dalla sovrapposizione a quest'ultima di una proliferazione epiteliale. Gluzinski ha pensato di saggiare la potenza secretiva cloridro-peptica dello stomaco, forzando la sua funzione con due pasti di prova ricchi d'albumina, a breve distanza l'uno dall'altro. Egli cioè, previo lavaggio, somministra una colazione di albumina d'uovo che estrae dopo 3¼ di ora, e dopo 4 ore dà un nuovo pasto costituito di un pezzo di carne arrostita. Titolando l'HCi libero del succo di questi due pasti, se nel 2° la quantità di acido è diminuita notevolmente in confronto del primo o viene a mancare, ciò significa un forte indebolimento secretivo della mucosa gastrica che, secondo Gluzinski, deve interpretare come un avviamento ad uno stato di catarro mucoso cronico, da ritenersi, secondo lui, come indice abbastanza precoce della degenerazione neoplastica dell'ulcera primitivamente semplice, poichè questa di per sè stessa, o che sia tuttora in atto o cicatrizzata, non porta quasi mai alla gastrite mucosa.

Questo mezzo suggerito da Gluzinski fu riscontrato abbastanza esatto in 5 casi da Sigel, mentre in uno condusse in errore. Sul suo valore diagnostico diranno meglio i risultati di ricerche successive; su di esso a me non si presentò occasione di portare contributo di osservazioni, però anche questo metodo di Gluzinski della ricerca della insufficienza secretoria, presenta subito una prima obiezione da farsi: è ben noto cioè omai a chi ha pratica di tali ricerche, come siano tutt'altro che infrequenti i casi nei quali l'ulcera gastrica semplice, specialmente se longeva, anzichè ad ipercloridria è con-

giunta ad una ipocloridria anche marcatissima, e Parkinson da sue ricerche avrebbe calcolato che si ha mancanza di HCl nel 1/3 dei casi di ulcera gastrica: se anche questa proporzione si voglia ritenere esagerata, tuttavia è certo che la ipocloridria nell'ulcera è tutt'altro che rara. Io nella mia pratica di tali malati ne ho incontrati parecchi e ricordo fra gli altri una giovane di 28 anni, (Giardi C. osservata nella Clinica medica di Siena), che fu operata poi di gastroenterostomia nell'aprile 1905 dal prof. Biondi direttore della Clinica chirurgica, per ulcera gastrica tipica: in tale malata, che io ebbi per lungo tempo in osservazione, nel vomito, parecchie volte esaminato, in qualche pasto di prova, l'acidità del succo gastrico, fu sempre da me trovata mai al di sopra del 0.80 ‰<sub>100</sub>, talvolta perfino appena sensibile. Un altro caso caratteristico di ulcera con ipocloridria marcatissima ho osservato nel maggio dell'anno decorso in quest'Ospedale in un giovane di 32 anni operato di gastroenterostomia dal prof. Mattoli, il quale presentò l'acidità gastrica non superiore al 1/2 ‰<sub>100</sub>.

Ora in questi casi di ulcera con ipocloridria così notevole, la prova di Gluzinski non può trovare un terreno favorevole per trarne il criterio diagnostico della degenerazione carcinomatosa dell'ulcera.

Oltre la prova di Salomon e Gluzinski, da Erdmann e Winternitz fu anche suggerito un altro mezzo diagnostico del cancro dello stomaco, consistente nella ricerca della reazione del triptofano. È questa una reazione cromatica che si ottiene facendo agire gli alogeni (acqua di cloro, di bromo o anche pochissimo cloruro di calcio) sul succo gastrico ottenuto con pasti di prova: il triptofano è una sostanza cromogena che si produce dalla scomposizione della molecola proteica e che sotto l'azione degli alogeni prende un bel colore violetto che si estrae facilmente con l'alcool amilico.

Secondo Erdmann e Winternitz la triptofan-reazione sarebbe assai comune nel succo degli stomaci carcinomatosi, in particolar modo quando il neoplasma ha prodotto una forte stenosi pilorica. Però anche la ricerca della triptofan-reazione presenta numerosi inconvenienti: essa non è costante, anzi dalle ricerche di Glassner e di Sigel sarebbe molto rara, poichè in 27

casi la trovarono solo tre volte, e per di più non si ha quasi mai nella fase iniziale della proliferazione cancerigena: la reazione non sembra specifica poiché gli stessi due autori la trovarono 3 volte su 26 casi di ulcera semplice e Glässner in un malato di catarro gastrico semplice.

Destituita di qualsiasi valore pratico e quindi superfluo ricordare, è la ricerca degli acidi grassi nelle urine, alla quale Rosenfeld rivolse la sua attenzione per riconoscere se se ne potesse trarre qualche criterio per la diagnosi del carcinoma gastrico. A parte la grande complicazione, delicatezza e difficoltà pratica della lunga ricerca di queste sostanze nelle urine, dove si trovano sempre in minima quantità, soggetta a variare grandemente a seconda della alimentazione, i risultati, che ottenne Rosenfeld nelle sue ricerche, dimostrano che non è prezzo d'opera accingersi ad una tale ricerca per trarne un criterio diagnostico di qualche valore per il cancro dello stomaco.

Questi recenti nuovi mezzi di indagine offerti alla semiotica gastrica, se hanno aumentato il numero di quelli di cui la Medicina disponeva per il passato, non possiedono però al pari di essi che un valore molto relativo, come si deduce dalle osservazioni già fatte che sopra abbiamo riferito, e tanto meno rispondono ancora con maggiore sicurezza allo scopo principale, nello interesse della terapia, di arrivare cioè alla diagnosi, così detta precoce, del cancro dello stomaco.

Allo studio di questo interessante argomento furono intraprese ed attualmente sono in corso delle nuove ricerche, delle quali io pure da oltre due anni mi vado pazientemente occupando e ne riferisco ora i fatti che fin qui ho potuto accertare, unitamente ai quali credo utile fare ricordo, riassumendoli, degli studi che mi sono noti pubblicati da altri, poiché in tal genere di ricerche non ancora esaurite, condotte con metodi vari sopra un materiale diverso che nessuno può avere a disposizione in abbondanza, il contributo delle osservazioni di ognuno può restare utile nelle ricerche successive.

Il concetto al quale si informano tali ricerche è quello di applicare il principio delle siero-precipitine, della

così detta reazione biologica, alla diagnosi del cancro dello stomaco.

È noto ormai a tutti in che cosa consista il procedimento delle siero-precipitine o reazione biologica e quali splendide e numerose applicazioni abbia già in breve tempo ricevuto.

L'esperienza fondamentale fu quella di *Tschistowitsch*, il quale vide che iniettando sotto cute nei conigli siero di sangue di cavallo o di anguilla, il siero di questi conigli così trattati acquistava la proprietà di dar luogo ad un precipitato se si mescolava rispettivamente con sangue di cavallo o di anguilla.

Poco dopo, *Bordet* in base a questa esperienza di *Tschistowitsch*, iniettò a dei conigli, anziché siero di sangue di altro animale, del latte di vacca, e vide che il siero del coniglio acquistava parimenti la proprietà di formare un precipitato con il latte di vacca. L'esperimento di *Bordet* fu poi ripetuto da *Wassermann*, da *Schurze* con latte di altri diversi animali e fu visto che il siero di ogni coniglio immunizzato acquistava la proprietà di produrre un precipitato unicamente e solo col latte omologo che era stato iniettato e non con quello di qualsiasi altro animale diverso.

A queste esperienze per primo fatte con i latte-sieri, come furono chiamati i sieri dei conigli iniettati colle diverse specie di latte, ne seguirono ben presto numerose altre con iniezioni di albumine di diversi animali, poi in seguito anche di vegetali e per ognuna di tali albumine si venne ad ottenere il relativo siero che dà luogo al fenomeno della precipitazione o reazione biologica.

La specificità di quest'ultima però non va intesa in senso strettamente assoluto; essa è più propria della razza che dell'individuo o specie molto affini; così ad es. il siero di un animale immunizzato con albumine umane, può dare precipitato anche col siero di alcune scimmie antropomorfe (*Scimpauzé*, *Gorilla*, *Orang-Utan*) (*Grumbbaum*) e analogamente il siero di animali immunizzati con sangue di cavallo, può dare precipitato con siero di sangue di asino e lo stesso fra cinghiale e maiale, fra cane e volpe (*Uhlenhuth*).

La delicatezza della reazione siero-precipitante è di una sensibilità così elevata, da sorpassare grandemente

quella di qualsiasi altra prova chimica, poichè poche gocce di siero immunizzato possono svelare anche soluzioni di albumina all' 1 su 10000 (Uhlenhuth) e per fino 1 su 500000 (Ascoli M.).

Della scoperta della reazione biologica si avvantaggiarono ben presto i diversi rami delle scienze mediche, e le applicazioni già ottenute e che ogni giorno vanno aumentando, sono numerosissime.

Così la medicina legale applicò subito il principio al riconoscimento delle macchie di sangue umano (Uhlenhuth).

La bromatologia fece le più larghe applicazioni per differenziare le varie specie di carni (Jess, Uhlenhuth, Rigler, Piorkowski, Noël, Ruppini; per riconoscere l'uovo nelle paste alimentari (Ottolenghi; per riconoscere il miele (Rigler), le albumosi del frumento (Kowarski), per differenziare alcune leguminose, fagiolo, pisello, lenticchia (Bertarelli), la presenza della segala cornuta nelle farine (Ottolenghi, per riconoscere il roborato, prodotto industriale ricchissimo di albumine vegetali (Schutze), per riconoscere alcune specie di funghi (DeBlasi e Catastini).

Nella farmacologia Lusini ottenne un siero precipitante per l'oppio, che reagisce solo con l'estratto acquoso di esso e non con le soluzioni separate dai suoi diversi alcaloidi.

Numerose belle osservazioni riflettenti specialmente la chimica biologica fece M. Ascoli nello studio delle precipitine. Sacconaghi nella clinica di Leube dimostrò che i diversi prodotti della digestione della albumina (albumosi, peptoni), sono capaci di dare un precipitato, ma generico come quello della qualità dell'albumina ingerita e non specifico per ciascun derivato della digestione.

Un'altra applicazione della reazione biologica, interessante per la storia e per la scienza, fece Majer il quale vide che il siero di coniglio trattato con siero umano, dava reazione precipitante con l'estratto ottenuto dal materiale di mummie che non potevano contare meno di 5000 anni di età.

La batteriologia per opera di Kraus e poi di Castellani (nel laboratorio di batteriologia dell'Istituto

Jenner di Londra), si arricchì di una reazione specifica per riconoscere le diverse infezioni (fatta eccezione per la difterite), avendo i suddetti autori dimostrato che i sieri di animali immunizzati verso una data infezione, danno precipitati solamente coi materiali filtrati di culture del germe della stessa infezione e non di altri.

Stern cominciò a portare lo studio dell'argomento della prova biologica nel campo della Clinica, e dimostrò, come Dieudonné e Mertens, che il siero di coniglio iniettato con siero umano precipita non solo il siero stesso del sangue ma anche l'albumina delle urine, deducendone così una prova che l'albumina dell'urina è uguale a quella del sangue, sulla qual conclusione però alcune ricerche di Moreschi autorizzano qualche riserva.

Parimenti Schulze vide che le albumosi che si trovano nelle urine di un carcinomatoso reagiscono con un siero precipitante ottenuto con iniezioni di albumina umana.

Un'applicazione semiologica infine delle precipitine fu fatta da Isaac e Vandenvelden, che ritrovarono una reazione precipitante sul siero di malati di *Bothriocephalus latius*.

Di fronte a questi numerosi e splendidi risultati raggiunti, sorse l'idea di cercare di applicare lo studio delle siero-precipitine alla diagnosi dei tumori e le ricerche che da pochissimi anni sono state intraprese da alcuni e quelle da me fin ora eseguite che riferisco, riguardano specialmente il cancro dello stomaco. Queste ricerche hanno avuto dapprincipio per scopo di provare se, immunizzando dei conigli con materiali di origine carcinomatosa, si potesse determinare per mezzo del siero di tali conigli un precipitato con il siero di malati di cancro dello stomaco.

I risultati ottenuti non furono così pronti e facili, come era forse a tutta prima da attendersi, e lo studio dell'argomento fu tentato e proseguito con diversi successivi indirizzi.

Credo opportuno, nell' esporre le mie osservazioni, di riassumere prima quelle rese note da altri, che per quanto è a mia conoscenza, sono dovute ad Engel, Kullmann, Mertens, D. Maragliano, Kelling.

I procedimenti adoperati furono diversi.

C. S. Engel fece le prime ricerche. Egli, partendo dal presupposto che nel sangue dei carcinomatosi esistano delle particolari sostanze anormali derivanti dal cancro, iniettò delle cavie con siero di sangue di due malati di cancro, l'uno dello stomaco l'altro dell'esofago, eliminando prima da tali sieri le albumine alla stufa a 58° C. Col siero immune di tali cavie fece la ricerca della reazione biologica sul siero del sangue dei due malati che avevano fornito il siero immunizzante, su quello di un altro malato di carcinoma di stomaco avviato alla cachessia, sul siero di altri sei individui sani e malati non carcinomatosi e sul siero di due vitelli.

Queste prime ricerche iniziate da Engel condussero ad un risultato negativo, poiché, come era da attendersi, tenuto conto del materiale sieroso iniettato così ricco di albumine, si ebbe un precipitato con tutti i sieri umani saggiati, sia di individui sani che malati di cancro o altre malattie: nessun precipitato si ebbe con i 2 sieri di vitello.

Kullmann ripeté con eguale risultato le esperienze di Engel, usando per iniezioni estratto glicerico di carcinoma.

Mertens tentò allora di immunizzare dei conigli con un carcinoma ulcerato della mammella, ma non essendo riuscito ad ottenere un materiale da iniezione sterile (come potei fare io), dovette abbandonare questo metodo e riprese le esperienze di Engel, iniettando dei conigli con siero ascitico di un carcinomatoso.

Per evitare poi l'inconveniente incontrato dal suddetto autore, ricorse alla precipitazione frazionata, cioè trattò anzitutto per più volte successivamente il siero del coniglio immunizzato con siero di individui normali, fino a non ottenere più alcun precipitato, che veniva eliminato colla centrifugazione. Sul siero limpido così ottenuto, segui la prova biologica con siero di individui carcinomatosi e non carcinomatosi, ritenendo che se con i primi avesse ottenuto un nuovo precipitato, questo fosse prodotto dalle supposte sostanze cancerigene contenute nel siero del sangue, vale a dire che fosse un precipitato di valore specifico per la diagnosi del cancro.

Da queste ricerche di Mertens, risultò che di 24 malati di cancro, 13 dettero reazione positiva e 11 nega-

tiva; di 2 malati non carcinomatosi 1 dette reazione positiva, 1 negativa; di 31 individui sani 1 reazione positiva gli altri negativa.

Cosicchè Merten s conclude: nè io, nè Engel abbiamo potuto avere la prova di esistenza di sostanze specifiche cancerose nel sangue di tali malati.

Merten s immunizzò poi delle cavie anche con urine di soggetti cancerosi senza alcun risultato positivo.

Dario Maragliano entrò nello studio dell'argomento della reazione biologica del cancro dello stomaco con un nuovo procedimento. Egli cioè, ritenendo che nell'ultimo liquido di lavaggio ottenuto con la prova di Salomon sia contenuto il succo derivante dal cancro di individui che ne sono affetti, pensò di immunizzare i conigli con tale liquido di lavaggio gastro-carcinomatoso. Poscia dal siero immune di questi conigli eliminò anzi tutto colla centrifugazione un precipitato generico che si formava a contatto del siero del sangue di individui sani e dopo ciò lo sottopose alla reazione col succo estratto da stomaci carcinomatosi: ottenne così un precipitato che non si verificò mai con succo di altri stomaci non carcinomatosi.

In questa sua prima memoria, D. Maragliano, dopo esposti i fatti osservati, fa delle riserve sulla specificità della ricerca positiva fin allora ottenuta in un solo caso.

In una seconda memoria D. Maragliano comunicò i risultati raggiunti con nuove ricerche istituite con immunisieri ottenuti non più con iniezioni di succo gastrico carcinomatoso, ma col succo gemente da un carcinoma del retto, che per speciali condizioni favorevoli operatorie gli era stato possibile raccogliere senza inquinamento fecale. Col siero immune di coniglio trattato con tale succo, D. Maragliano non ottenne mai precipitato con il siero del sangue dello stesso paziente carcinomatoso che aveva fornito il succo immunizzante nè di altri pazienti.

Ciò che coincide perfettamente coi risultati da me ottenuti con altro procedimento, come riferirò in seguito.

D. Maragliano con tale siero ottenne invece precipitato abbondante con succo gastrico di un paziente

certamente carcinomatoso. Non ebbe precipitato con succo gastrico di due altri soggetti carcinomatosi.

Sicché D. Maragliano ha il merito principalmente di avere per primo portato i saggi della ricerca della reazione precipitante direttamente sul contenuto di stomaci carcinomatosi, mentre nelle ricerche degli altri autori la prova biologica era stata saggiata solamente nel siero del sangue, e l'utilità del nuovo procedimento è importantissima, sia perchè le ricerche infruttuose fatte antecedentemente dagli autori tedeschi e da me, come ora esporrò, sul siero di sangue, avevano quasi troncata la speranza di riuscire a qualche utile risultato, sia per la maggior facilità e speditezza di procurarsi il materiale per eseguire la reazione biologica.

Importantissime sono le ricerche quasi contemporaneamente pubblicate da Kelling, il quale ricercò la reazione biologica fra siero di sangue di individui carcinomatosi e non carcinomatosi ed estratti di diversi animali: colombo, pollo ed embrione di pollo, maiale ed embrione di maiale, pecora, vitello, cane.

Col siero di sangue di individui non carcinomatosi trattato con gli estratti dei suddetti animali non si verificò mai alcun precipitato. Col siero di sangue di 67 individui indubbiamente malati di cancro e i suddetti estratti, Kelling non ebbe precipitato in 38 casi; degli altri 29 casi, 22 dettero reazione precipitante con estratto di pollo 4 con estratto di maiale, 3 con estratto di pecora.

Kelling conclude dalle sue ricerche eseguite molto rigorosamente: io posso come risultato di queste ricerche, affermare con sicurezza che ci sono casi di carcinomi nei quali circolano nel sangue delle vere e proprie precipitine che dimostrano rapporti determinati con una specie di albumina estranea al corpo umano; inoltre che questa reazione non si trova in altre malattie.

Una reazione negativa non esclude però l'esistenza di un carcinoma.

Queste osservazioni di Kelling sono interessantissime non solo per riguardo al loro valore diagnostico, ma in particolar modo per le considerazioni che ne deriverebbero relativamente alla oscura patogenesi dei carcinomi. Bisognerebbe pensare in base a tali osservazioni e al valore ormai accertato della specificità della reazione bio-

logica per riguardo alle razze, che nell'organismo di un carcinomatoso si producano degli anticorpi verso delle sostanze proteiche non umane ma appartenenti ad altre specie di vertebrati; in altre parole si sarebbe indotti a ritenere che i carcinomi non siano che la proliferazione nell'organismo umano di un tessuto estraneo, di altro animale molto distante dall'uomo nella scala zoologica.

Un qualche cosa di analogo alle osservazioni di Kell-ling avrei io pure ottenuto nelle mie ricerche, sulle quali richiamerò in seguito l'attenzione.

Ed ora espongo i risultati fin qui da me avuti con ricerche intraprese da oltre due anni, delle quali mi astenni fin oggi di riferire perchè in esse fui costretto a procedere molto a rilento per la facilità che in queste indagini si ha di perdere un coniglio durante l'immunizzazione, per la difficoltà di procurarsi da cadaveri freschi la sostanza neoplastica pura adatta per iniettare e per non avere sempre a disposizione il materiale clinico su cui eseguire i saggi della ricerca biologica.

Ecco brevemente come iniziai le mie ricerche.

Come materiale da immunizzare mi servii dapprima di quei carcinomi di stomaco che si presentavano in massa piuttosto voluminosa, ottenuti da cadaveri sezionati poche ore dopo la morte, cercando di utilizzare la sola sostanza neoplastica pura centrale, isolandola pazientemente quanto più possibile dai tessuti circostanti. Questa sostanza carcinomatosa così ottenuta, veniva ridotta in fine poltiglia e poi sospesa in soluzione fisiologica con aggiunta di cloroformio, per ottenerne la sterilizzazione. Da questo miscuglio, rinchiuso in un matraccio, agitato di quando in quando, veniva dopo 20-30 giorni eliminato il cloroformio al vuoto col mezzo della pompa di Bunsen. Un tale metodo di sterilizzazione, mentre non altera il materiale da adoperarsi, risponde benissimo allo scopo, come potei accertarmene in altre mie ricerche per sterilizzare gli escreti e studiarne la tossicità.

Come animali da iniezione mi servii di conigli ai quali introducevo entro il cavo peritoneale, la poltiglia di materiale carcinomatoso liberato dal cloroformio, in dose iniziale di cc. 2, salendo gradatamente fino a cc. 10 a distanza di 10-15 giorni fra una iniezione e l'altra.

Il siero dei conigli, così trattati, si dimostrò attivissi-

mo verso il liquido limpido separato dal materiale immunizzante, producendo un bellissimo ed abbondante precipitato che non si aveva mai con siero di conigli normali.

Con il siero immunizzato così ottenuto, eseguii la prova biologica verso sieri di sangue di molti malati di cancro dello stomaco, di altri organi o di altre affezioni diverse non neoplastiche. Dei due sieri posti in reazione (del coniglio immunizzato e del malato) mi servii sempre di diluzione di essi in soluzione fisiologica poichè è noto che con tale accorgimento la prova precipitante riesce più sensibile.

I risultati che raggiunsi con questa prima serie di ricerche furono costantemente negativi, cioè non ottenni mai alcun precipitato: Solo in due casi (siero di un malato di cancro di stomaco e di un giovane sano) si ebbe un leggerissimo inalbamento appena sensibile.

Parimenti la prova riuscì sempre negativa se eseguita, anzichè sul siero di sangue, su quello di essudati o trasudati del peritoneo e delle pleure in malati carcinomatosi e non carcinomatosi.

I sieri sui quali eseguii la prova furono i seguenti:

5 casi di carcinoma gastrico.

2 casi di carcinoma gastro-epatico (sangue e liquido ascitico).

1 caso di cancro pleuro-polmonare (liquido pleurico).

1 caso di sarcoma del ginocchio.

2 casi di peritonite tubercolare (sangue e liquido ascitico).

2 casi di tubercolosi pleuro-polmonare (sangue e liquido pleurico).

1 caso di infezione intestinale.

1 caso di cardiopatia valvolare in scompenso (sangue e liquido ascitico).

4 individui giovani sani.

Per una nuova serie di esperienze volli procurarmi un materiale carcinomatoso per iniezioni, quanto più fosse possibile puro, e perciò anzichè della sostanza neoplastica dello stomaco, mi avvalsi dei noduli carcinomatosi metastatici del fegato di una malata di cancro dello stomaco, il cui cadavere fu sezionato a poche ore dalla morte. Questi noduli furono perfettamente isolati dal tessuto epatico circostante, poi ridotti in poltiglia, trattata con solu-

zione fisiologica e cloroformio nel modo che ho sopra esposto: questa poltiglia servi per iniettare dei conigli, di cui solo uno sopravvisse e fornì il siero per tutte le ricerche che vengo ora a riferire.

Questo coniglio fu da me ucciso con un salasso finale dopo molti mesi da che subiva le iniezioni, quando, per la forte denutrizione cui era arrivato, ne credevo prossima la fine. Alla sezione dell'animale, all'infuori dello stato di rilevante denutrizione, non trovai altro di notevole.

Il siero da esso ottenuto con l'ultimo salasso raccolto asetticamente rimase ben conservato in piccole fialette con le quali esegui buona parte delle mie ultime ricerche.

Negative riuscirono, come nella prima serie di esperienze che ho riferito sopra, tutte le prove eseguite anche col siero di questo coniglio sul siero di sangue, o di cavità sierose di diversi malati di cancro dello stomaco, di altri organi, di altre malattie. La prova fu perfino negativa col siero di sangue ed ascitico che avevo estratto durante la vita dalla stessa malata (Sereni C. Clinica Med. di Siena) dal cui fegato fu ricavato il materiale carcinomatoso che servi per iniettare il coniglio.

Le ricerche furono eseguite nei seguenti casi:

2 malati di carcinoma gastrico.

1. La stessa malata di cancro che aveva fornito il materiale immunizzante (sangue e liquido ascitico conservati).

1 malato di carcinoma del coledoco, confermato alla necroscopia; (sangue e liquido ascitico fortemente itterici).

2 malate di cancro dell'utero.

4 sieri di sangue di alcuni altri malati diversi.

Nei soggetti carcinomatosi volli tentare la prova anche sulle urine, con esito parimenti negativo come sul siero.

Mentre avevo in corso le mie ricerche con tali risultati negativi che volli differire a pubblicare e che mi avevano intanto convinto essere inutile andare a cercare la reazione biologica nel sangue dei carcinomatosi, verso la fine del 1904 venni a conoscenza della prima memoria di D. Maragliano sulle sue ricerche compiute all'Augusta Hospital di Berlino presso il Prof. Krause, sul modo di precipitazione degli anticorpi e sulla prova biologica

del cancro dello stomaco, secondo che più sopra ho ricordato.

Dopo la lettura della memoria di D. Maragliano, adottai io pure il sistema di eseguire la prova biologica sul liquido del contenuto gastrico, anziché sul siero di sangue come avevo fino allora fatto.

La mia prima ricerca di tal genere fu compiuta due volte nel succo vomitato da una malata di carcinoma indubbio gastro-epatico a decorso rapidissimo ed estremamente maligno: questo succo dava reazione acida per acido lattico, precipitato con reattivo di Esbach per l'albumina e presenza di peptone: con questo liquido esegui la reazione biologica marcatamente positiva con la formazione di un magnifico precipitato.

Per ricercare allora se la reazione positiva così ottenuta fosse specifica del cancro dello stomaco, ripetei la stessa prova fra il siero dello stesso coniglio immunizzato e diversi succhi gastrici ottenuti con semplice lavaggio o con pasti di prova di malati diversi, che dettero sempre reazione acida per lo più per HCl, in qualche caso per acido lattico, precipitazione col reattivo di Esbach per l'albumina e presenza di peptone. Le prove furono eseguite sui seguenti casi:

- 2 malati di cancro indubbio dello stomaco.
- 1 malato assai sospetto di carcinoma gastrico.
- 3 malati di ulcera gastrica indubbia.
- 2 malati di ulcera gastrica sospetta.
- 2 malati di catarro gastro-intestinale cronico.
- 2 convalescenti di tifo.
- 1 individuo normale.

Nei succhi gastrici di tutti questi soggetti la prova della precipitazione riuscì positiva, con precipitato abbondante anche se i due liquidi messi a contatto erano assai diluiti in soluzione fisiologica.

Tutto ciò dimostrava che il precipitato, che io ero venuto ad ottenere col succo gastrico, era di natura generica e non specifica per il cancro dello stomaco.

Vollì allora cercare di indagare anzi tutto a quale sostanza del succo gastrico si dovesse la precipitazione. Che essa fosse dovuta a presenza di albumine umane, era escluso dal fatto che il siero immune del coniglio non aveva mai dato precipitato con il siero del sangue u-

mano; inoltre, ciò fu pure confermato da che rimasero, negative anche delle prove fatte sopra alcune urine albuminose.

Doveva perciò ritenersi che il precipitato fosse dato dalle albumine alimentari, e per cercare di conoscere a quali di esse fosse dovuto, eseguii varie prove con soluzione di varie albumine alimentari, brodi di carni, albume d'uovo, e non ottenni alcun precipitato neppure acidificando leggermente con HCl per riprodurre le condizioni di acidità dello stomaco.

Da questo risultato negativo fui indotto a pensare che la precipitazione fosse dovuta ai derivati dalla digestione gastrica delle sostanze proteiche alimentari, e siccome in tutti i succhi gastrici su cui avevo sperimentato, era stata sempre presente la reazione del biureto, così volli ricercare se la precipitazione non fosse dovuta ai peptoni derivati dalla digestione gastrica dei proteici alimentari. A tal uopo eseguii la prova biologica fra il siero sempre dello stesso coniglio (immunizzato con noduli epatici carcinomatosi) e una soluzione debole di peptone comune di laboratorio che serve per preparare i mezzi di coltura in batteriologia. La prova riuscì negativa, ma se invece acidificavo leggermente con HCl la soluzione di peptone (come è dei succhi gastrici), allora ottenevo un precipitato bellissimo come mi avevano dato tutti i succhi gastrici.

Indotto da ciò a pensare che la precipitazione fosse dovuta ai peptoni derivati dalla digestione delle albumine alimentari, eseguii anche un'altra prova di controllo. Somministrai cioè a dei malati, previo lavaggio gastrico al mattino, un pasto di acqua distillata, amido, zucchero ed alcool, in modo da poter escludere le sostanze proteiche. Però anche nel succo di questi pasti estratti dopo 3-4 d'ora, ebbi la reazione del biureto, ciò che vuol dire o che gli alimenti somministrati contenevano tracce di sostanze proteiche, o che il lavaggio dello stomaco prima eseguito non era stato perfetto; e di fatti ne ebbi reazione precipitante con il siero di coniglio immunizzato, non abbondantissima come coi pasti di proteici, ma certo abbastanza evidente. Solo in un caso, in cui la reazione del peptone era appena sensibile, si ebbe un precipitato quasi nullo.

Tutto ciò mi condusse a ritenere che il precipitato generico, che io ottenevo fra il siero del coniglio immunizzato con noduli carcinomatosi del fegato e i succhi gastrici, fosse dovuto alla presenza del peptone formatosi nella digestione delle varie sostanze alimentari. Debbo però notare che il liquido decantato dalla poltiglia del materiale immunizzante non dava la reazione del biuret.

Questo precipitato, ottenuto in tutte le prove fatte con succhi gastrici o con soluzione di peptone del commercio acidificato con  $\text{HCl}$ , si discioglieva con aggiunta di soluzione di potassa nè riprecipitava acidificando di nuovo. Il precipitato non si produceva se il tubo di reazione veniva alcalinizzato con soda o potassa.

Debbo a questo punto riferirmi alle esperienze di K e L i n g, che ho già ricordato, per far notare una certa analogia che con esse mi sembra presentino i fatti che ho sopra esposti. Egli cioè avrebbe trovato che nel siero di sangue di alcuni cancerosi, e non di altri individui, si trovano formati degli anticorpi che precipitano con gli estratti di alcuni animali di razze inferiori (pollo, maiale, pecora); con questo fatto parmi abbiano relazione i precipitati che io ho ottenuto fra gli anticorpi artificialmente prodotti nel siero di sangue di un coniglio e le albumine modificate dalla digestione, appartenenti a sostanze alimentari, derivanti naturalmente dall'organismo di animali diversi.

Questi fatti, che ero venuto così ad osservare nelle mie esperienze, avevano dimostrato che da tutti i succhi gastrici trattati con un siero di coniglio immunizzato con i noduli metastatici di un fegato carcinomatoso, si aveva un precipitato generico, molto verosimilmente dovuto alla presenza del peptone alimentare della digestione.

Pensai perciò di ricorrere alla precipitazione frazionata per eliminare questo precipitato generico, vale a dire di trattare il siero del coniglio immunizzato, successivamente per più volte con piccole quantità di succo di stomaci certamente non carcinomatosi, eliminando sempre con la centrifugazione il precipitato generico che si formava fino a che non si aveva più alcuna formazione di esso. Dopo ciò, sul liquido così ottenuto, nel quale erano stati neutralizzati tutti gli anticorpi del siero immune che davano luogo al precipitato generico, eseguii di nuovo la

prova biologica con il succo gastrico di un malato di cancro indubbio dello stomaco, allo scopo di vedere se nel siero esistesse e rimanesse ancora un secondo precipitogeno specifico del carcinoma gastrico.

La stessa prova ripetei con il succo dello stomaco di un altro malato, nel quale molti sintomi conducevano ad ammettere l'esistenza di un cancro, sebbene non potessi riuscire a palpare il tumore.

In ambedue queste prove, eseguite con il metodo che ho esposto della precipitazione frazionata, io non ottenni né precipitato né intorbidamento sensibile.

La scarsità, che da qualche tempo ho nel mio esercizio di malati di carcinoma gastrico, non mi ha permesso di eseguire con tale metodo un maggior numero di ricerche simili alle due di cui ho per ora riferito il risultato.

Intanto però ebbi occasione in questi ultimi tempi di fare altre ricerche in tre malati ricoverati ora di recente in questo Ospedale, due con un carcinoma del labbro inferiore, l'altro dell'utero. Dalla superficie ulcerata di questi tre tumori, dopo averla ben deterisa con soluzione fisiologica, raschiai un poco di sostanza neoplastica e la stemperai bene in un piccolo mortajo con una proporzionata quantità di soluzione fisiologica. Poscia filtrai le tre miscele e sui tre liquidi limpidissimi che ne ottenni, eseguii la prova biologica con il siero immune sempre dello stesso coniglio, che servi per le antecedenti ricerche.

Queste tre prove riuscirono bellissime, positive, dopo essere state alcune ore al termostato: cioè con uno dei liquidi derivanti da cancro del labbro ebbi un precipitato non molto abbondante ma benissimo evidente; dai due altri liquidi derivanti relativamente dall'altro cancro del labbro e da quello dell'utero, ebbi da ognuno un precipitato abbondantissimo.

Riassumendo, sul valore dei nuovi mezzi diagnostici del carcinoma gastrico di recente proposti da Salomon, Gluzinski, Erdmann e Winteritz, mi riferisco a quanto di essi fu già detto sopra, dopo l'esposizione di talune mie osservazioni sulla prova di Salomon e sui risultati che alcuni autori hanno riferito per ora avere ottenuto dalle ricerche da essi eseguite con tali metodi.

Per quanto riguarda lo studio della applicazione della reazione biologica alla diagnosi dei carcinomi in genere

e di quelli dello stomaco in particolar modo, ciò che fu l'oggetto principale di questa mia memoria, ho creduto utile riassumere lo stato attuale delle ricerche finora compiute da altri, nel riferire quelle che io ho potuto fin qui eseguire su tale argomento, del quale da qualche anno mi sono andato occupando.

Da tutto quanto ho esposto si rileva come lo studio dell'argomento non sia ancora esaurito nè si possano trarre ancora conclusioni definitive, ma dopo le prime prove infruttuose, che condussero successivamente a tentativi di metodi diversi coloro che se ne occuparono, si sono avuti taluni risultati che incoraggiano a proseguire tali ricerche, nel corso delle quali si sono presentate numerose difficoltà, che forse non era a tutta prima da attendersi, tenuto conto dei più pronti successi che si ottennero in tutte le altre applicazioni che si son potute fare della reazione biologica.

Intanto dalle ricerche pubblicate si è venuto a riconoscere che come materiale da iniezione per produrre un siero precipitante negli animali (coniglio o cavie) non sono da usarsi il siero di sangue di malati cancerosi (Eugel) nè quello di cavità sierose come fece Mertens, adoperando liquido ascitico di un malato di cancro di stomaco, nè urine di carcinomatosi come fece lo stesso autore.

Come materiale immunizzante devono invece adoperarsi liquidi provenienti da carcinomi, come fece D. Maragliano iniettando prima succo gastro-canceroso ottenuto colla prova di Salomon, e poi succo più concentrato che direttamente poté raccogliere da un carcinoma del retto.

Meglio io credo sia di iniettare direttamente sostanza carcinomatosa greggia, ricavata dalla massa neoplastica di cancri dello stomaco o preferibilmente da noduli metastatici del fegato come io feci: un tentativo analogo fu fatto già anche da Mertens con un carcinoma della mammella, ma egli però dovè presto abbandonarlo non essendo riuscito a poter preparare un materiale da iniezione sterile, ciò che a me fu dato ottenere a mezzo di un opportuno trattamento al cloroformio senza alterare il materiale da iniezione.

Circa ai liquidi patologici, su cui eseguire la prova

diagnostica, dalle ricerche di Engel, Kullmann, Mertens, D. Maragliano, dalle mie, si è reso ormai ben evidente che non si devono, per diverse ragioni, usare il siero del sangue o di raccolte pleuriche o ascitico, come io ho provato, nè le urine dei cancerosi, sulle quali a me è risultato che restano inattivi i sieri immuni.

D. Maragliano potè ottenere risultati positivi notevoli eseguendo la reazione sul succo gastrico di qualche malato di cancro, tentativo, che feci io pure in succhi gastrici di malati diversi e di due cancerosi, con risultato però diverso dal suo: io ho potuto riconoscere la formazione costante di un precipitato generico, sul quale ho riferito dettagliatamente, ma non specifico del cancro; la differenza fra i suoi e i miei risultati io credo forse debba attribuirsi al materiale diverso adoperato per ottenere i sieri precipitanti e all'aver io eseguito la prova sul succo gastrico greggio, per così dire, mentre egli forse sperimentò su quello ottenuto col lavaggio di Salmon.

Nelle mie ultime ricerche io potei infine riconoscere, ciò che parmi ben notevole, che, qualora si tratti di carcinomi esterni oppure si possa disporre di frammenti di tumori asportati, un buon sistema, per eseguire la prova biologica diagnostica, può essere il seguente: raschiare cioè una piccola parte di materiale dalla superficie ben detersa del neoplasma, spappolarla molto bene con della soluzione fisiologica, e sul filtrato limpido di questa miscela eseguire poi la reazione con il siero di un coniglio immunizzato con sostanza cancerosa greggia. I tre ultimi casi, che io ho riferito delle mie ricerche, riferentisi a due cancri del labbro e ad un altro dell'utero, mi hanno offerto la formazione di bellissimi precipitati, che, secondo l'esperienza che ho acquistato in tali ricerche, mi fanno ben sperare che la prova biologica del cancro possa ricevere una utile applicazione, sulla quale tornerò col contributo di nuove osservazioni.

Le ricerche di Kelling, sulla cui importanza ho già richiamato l'attenzione, furono condotte con metodo diverso da quelli da altri seguiti; egli cioè non immunizzò animali per avere siero attivo, ma invece egli trovò che le precipitine si trovano formate nel sangue dei cau-

cerosi e non esistono nel sangue di altri individui: tali precipitine egli trovò che agiscono sopra estratti di pollo, di maiale, di pecora: la reazione precipitante fu da lui ottenuta con frequenza maggiore sull'estratto del pollo. Quindi queste ricerche di Kelling, che avrebbero un così importante riflesso sulla patogenesi dei tumori e colle quali ho già notato una certa analogia che sembrano avrebbero talune osservazioni fatte nelle mie ricerche, dimostrerebbero che nell'organismo dei malati di cancro si vadano naturalmente formando, per una specie di auto-immunizzazione, degli anticorpi che si riversano nel siero del sangue, e si comprenderebbe bene allora come le prove eseguite da me e da altri colla miscela di siero di tali malati e quello di animali immunizzati artificialmente con sostanze cancerose, siano rimaste sempre sterili, poichè non si farebbe con tal modo che sommare anticorpi della stessa natura, gli uni prodotti naturalmente nell'organismo del malato, gli altri provocati artificialmente nell'organismo dell'animale immunizzato.

#### BIBLIOGRAFIA

- Dupèriè. Globules du sang variat. phys. Thèse de Paris, 1878. — Schaefer. *Zeitschr. f. klin. Med.* 1895. — Ascoli V. *Il Policlinico*, 1896. — Hoffmann. *Zeitschr. f. klin. Med.* 1897. Capps. *Boston medic. Surg. Journal*, 1897. — Ossler and Macrae. Cancer of the stomach. 1900. — Marchetti. *Il Morgagni*, 1896. — Hassmann. *Wiener klin. Wochens.* 1895. — Hartung. *Wiener klin. Wochens.* 1895. — Douglas. *British med. Journal*, 1901. — Cabot. The Clinical Examination of the Blood, 1897. — Sansoni. Trattato delle malattie dello stomaco, 1897. — Salomon. *Deutsche med. Woch.* 1903, num. 31. — Sigel. *Berlin. klin. Woch.* 1904. — Gluzinski. *Mittheilungen aus den Grenzgebieten der inneren Medicin und Chirurgie*, 1902, Band. X. — Parkinson. *The Lancet*, 1894. — Erdmann e Winternitz. *Münchener mediz. Wochens.* 1903. — Glässner. *Berlin. klin. Wochens.* 1903, num. 26. — Bordet *Annales de l'Institut. Pasteur*, 1899. — Wassermann. *Deutsche med. Wochens.* 1900. — Schütze. *Zeitsch. f. Hygiene*, 1901. — Jess. *Berlin. Tierarztl. Wochens.* 1901. — Uhlenhuth. *Deutsche med. Wochens.* 1901. — Rigler. *Oester. chem. Zeitung*, 1902. — Piorkowski. *Berlin. deutsche Pharmak. Gesellschaft*, 1902. — Noël. *Zeitsch. f. Hygiene*, 1902. — Ruppin. *Zeitsch. f. Unters. d. Nahrungs und Genussmittel*, 1902. — Ottolenghi. *Atti Accademia Fisiocritica*, Siena, 1903. — Rigler. *Oester. Menz. Zei-*

tung, 1902. — Kowarski. *Deutsche med. Wochens.* 1901. — Bertarelli. *Giornale Accad. Med. Torino*, 1902. — Ottolenghi. *Atti Accademia Fisiocritici*, Siena, 1903. — Schutze. *Zeitsch. f. Hygiene*, B. d. 28. — De-Blasi e Catastini. *R. Accad. Med. di Roma*, 28 gennaio 1906. — Lusini. *Atti Accademia Fisiocritici*, Siena, 1905. — M. Ascoli. Fatti nuovi per la dottrina della nutrizione. *Riforma Medica*, 1903, num. 11. — Sacconaghi. *Zeitschr. f. klin. Med.*, 1903. — Majer. *Münc. Med. Woch.*, 1904. — Moreschi. *Atti Congresso Med. interna*. Pisa, 1901. — C. S. Engel. *Deutsche Medicinische Wochens.* 1903, num. 48. — Kullmann. *Eerliner klin. Wochens.* 1904, n. 8. — Mertens. *Deutsche medicin. Wochens.* 1904, num. 6. — D. Maragliano. *Gazzetta degli ospedali e delle Cliniche*, 1904, num. 124. — idem, 1905 num. 97. — Kelling. *Berliner Klinisch. Wochens.* 1905 num. 30. — Santini A. XI Congresso Medicina interna Pisa, 1901.

11284



