BIBLIOTECA MEDICA ROMA B 67 51

9452

ISTITUTO NAZIONALE FASCISTA DELLA PREVIDENZA SOCIALE
OSPEDALE SANATORIALE «BERNARDINO RAMAZZINI» - ROMA
DIRETTORE: PROF. FEDERIGO BOCCHETTI

Dott. MARIO DE MARCHI

# LA PROVA DEL ROSSO CONGO NELLA DIAGNOSI DI AMILOIDOSI

## Percentuale di assorbimento del colore e controllo autoptico in 78 casi

ESTRATTO DA «LOTTA CONTRO LA TUBERCOLOSI»
ANNO XI - NUMERO 6 - GIUGNO 1940-XVIII

Miscellanea B 67 - 51

STABILIMENTO TIPOGRAFICO «EUROPA» - ROMA

ISTITUTO NAZIONALE FASCISTA DELLA PREVIDENZA SOCIALE
OSPEDALE SANATORIALE «BERNARDINO RAMAZZINI» - ROMA
DIRETTORE: PROF. FEDERIGO BOCCHETTI

Dott. MARIO DE MARCHI

# LA PROVA DEL ROSSO CONGO NELLA DIAGNOSI DI AMILOIDOSI

## Percentuale di assorbimento del colore e controllo autoptico in 78 casi

ESTRATTO DA «LOTTA CONTRO LA TUBERCOLOSI»
ANNO XI - NUMERO 6 - GIUGNO 1940-XVIII

STABILIMENTO TIPOGRAFICO «EUROPA» - ROMA

La degenerazione amiloide è una alterazione dei tessuti i cui costituenti istologici si presentano trasformati in una sostanza omogenea, vitrea, e, sotto certi aspetti, ha una certa affinità con la degenerazione jalina. Tale alterazione era già nota agli anatomici del XVIII secolo i quali, avendola osservata specialmente negli organi parenchimatosi, parlano di fegato, milza, rene aumentati di volume e di consistenza, di colorito grigio, con superficie di taglio splendente, con zone, più o meno estese, di colorito pallido e di aspetto omogeneo.

Rokitansky, nel 1842, descrisse questa alterazione con il nome di *degenerazione lardacea,* ma si vide subito che nulla aveva in comune con la degenerazione grassa, come tale denominazione avrebbe fatto credere. Virchow, più tardi, avendo osservato che gli organi in preda a questi fatti degenerativi contengono una sostanza che trattata a fresco con una soluzione iodo-iodurata, si colora in bruno, mentre il restante tessuto resta color paglierino e che, per successiva azione di una soluzione concentrata di acido solforico, dal bruno passa al violetto o al bluastro, pensò che questa sostanza avesse una certa analogia con gli amidi, piuttosto che con le colesterine, come riteneva Meckel. Da questa concezione di Virchow restò il nome di *degenerazione amiloide,* per quanto successive ricerche abbiano dimostrato che i prodotti di tale degenerazione nulla hanno in comune, dal punto di vista della composizione chimica, con gli amidi. La sostanza amiloide, infatti, è un corpo azotato contenente zolfo e ha una composizione centesimale simile a quella delle sostanze albuminoidi. In seguito alle ricerche di Krawkoff, sembrò dimostrata la natura vera dell'amiloide come una combinazione dell'acido condroitinsolforico con una molecola proteica. Ma questa supposizione fu in seguito contraddetta da analisi chimiche accurate che esclusero la presenza dell'acido condroitinsolforico nella amiloide bene depurata. Successivamente la teoria di Krawkoff è stata ripresa da Neuberg il quale afferma che esistono diverse varietà di sostanza amiloide rappresentanti altrettante fasi di un processo di degradazione delle proteine con formazione di acido condroitinsolforico. Anche secondo Lustig e Rondoni questa sostanza non sarebbe estranea alle reazioni microchimiche caratteristiche dell'amiloide. Secondo gli importanti studi di Kuczynski sulla genesi dell'amiloide, questa sostanza è come una massa cristallina che precipita dai liquidi organici nei tessuti, quando giunge a saturazione nei liquidi stessi, proveniente da prodotti abnormi di disintegrazione proteica, venendo così l'amiloidosi a rientrare nel quadro della così detta « intossicazione proteica ». Sperimentalmente, infatti, questo autore l'ha prodotta negli animali con iniezioni parenterali di caseina ed altre sostanze proteiche.

Morgenstern è riuscito a riprodurre la degenerazione amiloide in topi trattati con preparati proteici e conclude che l'amiloide è un prodotto di una abnorme e incompleta elaborazione di proteine circolanti. Domagk, che ha ottenuto la comparsa della degenerazione amiloide con una iniezione massiva di cocchi viventi, afferma che l'amiloide deriva non dalla proteina eterologa, ma da disfacimento di cellule fagocitanti (leucociti, reticolo-endoteli, ecc.).

In ogni modo, secondo Rondoni, « la formazione di amiloide è espressione di un abnorme processo disintegrativo a carico di proteine eterologhe o eterogeneizzate; il materiale precipitante nei tessuti trascina seco forse altri corpi (onde diversità di composizione e di apparenza della amiloide) e forse secondariamente si lega coll'acido condroitinsolforico preesistente nei connettivi e non quindi costituente primario della amiloide ».

Quando è molto estesa, la degenerazione amiloide è facilmente riconoscibile macroscopicamente per la sua caratteristica colorazione violacea assunta dopo il trattamento con una soluzione iodica, prima, e poi con una soluzione concentrata di acido solforico. Nei preparati microscopici, però, è meglio sfruttare la proprietà che ha l'amiloide di tingersi in modo metacromatico con alcuni colori di anilina. Questa sostanza, infatti, si colora in rosso o rosso violaceo con il violetto di metile, con il violetto di genziana e con il verde di metile, mentre il rimanente tessuto resta colorato in violetto o in verde; tale differenza appare più

evidente se, dopo la colorazione, le sezioni vengono lavate in una soluzione di acido acetico all'1 %.

La degenerazione amiloide si osserva nel corso di diversi stati morbosi ad andamento cronico ed esauriente, come la tubercolosi e la sifilide con manifestazioni croniche estese, le suppurazioni di lunga durata, quali si verificano facilmente nelle lesioni ossee, mentre non è stata mai osservata nella cachessia cancerigna nè in quella malarica. E' stata riscontrata anche negli animali in diversi processi patologici a decorso molto lungo e in questi ultimi anni è stata frequentemente notata nei cavalli produttori di siero antidifterico, trattati a lungo con dosi crescenti di tossina difterica, dimostrando, così, che alla produzione dell'amiloide contribuisce notevolmente la intossicazione proteica o di origine batterica.

Le conseguenze della degenerazione amiloide sono gravi sia perchè essa è connessa con stadî avanzati di malattie esaurienti, sia perchè è una alterazione che, estendendosi progressivamente, se pure in modo lento, riduce gradualmente la funzionalità dell'organo colpito distruggendone gli elementi propri e causando disturbi circolatori legati alla riduzione del lume vasale per alterazioni della sua parete.

La sostanza amiloide si localizza, nei tessuti colpiti dal processo degenerativo, negli interstizi, fra gli elementi cellulari. Non sembra che le cellule partecipino attivamente al processo, ma, venendosi a trovare completamente incluse nella sostanza amiloide che a mano a mano si sostituisce al tessuto fondamentale, vanno incontro all'atrofia e finiscono con lo scomparire del tutto: Nelle fasi avanzate, infatti, tutto il tessuto si presenta trasformato in una massa omogenea con i caratteri dell'amiloide. Di solito il processo degenerativo ha come punto di partenza le pareti vasali da cui si diffonde estesamente nel connettivo circostante. Gli orgam che, di regola, sono maggiormente colpiti sono il fegato, la milza, il rene, le capsule surrenali, le ghiandole linfatiche e l'intestino.

Senza volerci addentrare minutamente nell'argomento, accenniamo soltanto alle principali caratteristiche anatomo-patologiche delle lesioni di tali organi.

Il *fegato,* nei casi lievi non mostra alcuna alterazione macroscopica. Quando la degenerazione è più avanzata, esso può assumere dimensioni enormi con un peso che può arrivare fino ai 7 kg. Anche quando non è ingrandito, il suo peso specifico è sempre aumentato; la sua forma si fa globosa, i margini sono arrotondati, non taglienti; la superficie è liscia, la consistenza è dura, rigida, inelastica. La superficie di taglio è omogenea, trasparente, asciutta come cera, di colorito rosso bruno scuro o grigio bruno pallido. Il colorito pallido deriva dal fatto che numerosi capillari sono ristretti o del tutto schiacciati.

La deposizione della sostanza amiloide nell'apparato vascolo-connettivale porta, secondariamente, alla scomparsa per compressione e alla degenerazione delle cellule epatiche. Spesso si alterano per prime le piccole arterie interacinose, nella cui tunica media si raccolgono delle zollette amiloidi; si trova allora la sostanza amiloide, vitrea, nelle vicinanze dei capillari interacinosi da cui si insinua, successivamente, fra il tubo endoteliale dei capillari e le cellule epatiche. Queste ultime ne restano compresse e i lumi dei capillari, pur rimanendo intatti gli endoteli, si fanno sempre più ristretti fino a divenire del tutto impervi; le trabecole di cellule epatiche in parte si atrofizzano per compressione, in parte minore subiscono la degenerazione albuminosa e grassa. Mai le cellule epatiche divengono amiloidi. Alle cellule epatiche distrutte si sostituisce la sostanza amiloide che, alle volte, si riscontra distribuita in modo assai irregolare e vario per cui si trovano punti fortemente degenerati in mezzo ad altri debolmente o affatto infiltrati.

La *milza* a volte è poco aumentata di volume, altre volte è notevolmente ingrandita più in altezza che in lunghezza, dura, tozza, con margini arrotondati. Il processo degenerativo può limitarsi ai soli follicoli e si ha allora il tipo così detto di *milza a sagù* in cui, alla superficie di taglio, i follicoli si sollevano come dei granuli trasparenti grigi, simili a sagù o uova di pesce. L'alterazione colpisce principalmente il reticolo e le piccole arterie nonchè i capillari dei follicoli. Le fibre del reticolo si rigonfiano in forma di cordoni trasparenti, a forma di clava o varicosi; le maglie del tessuto adenoideo perciò si restringono fino a divenire semplici fessure stellate o dentellate, nelle quali si trovano scarsi linfociti.

Altre volte si ha amiloidosi della polpa o della polpa e dei follicoli insieme (*milza a prosciutto,* lardacea o cerea), in cui il colorito, dipendente dal contenuto sanguigno, è rosso come quello del prosciutto affumicato o del salmone, oppure è pallido, bruno giallastro, come cera o grasso. Nei gradi più elevati, si notano, microscopicamente, ammassi o zolle translucide di amiloide fra le trabecole. Le fibre del reticolo sono ingrossate e le cellule della polpa vanno a mano a mano scomparendo; le pareti delle arterie, dei capillari e delle vene sono vitree; molti vasi sono aumentati di volume, ma impervi.

Il *rene,* quando la degenerazione è lieve, non presenta alcun segno macroscopico. Nei casi avanzati, si presenta ingrandito, di consistenza dura, pesante, con capsula facilmente svolgibile, con superficie pallida, liscia (*grosso rene bianco amiloide*). Midollare e corticale sono ben delimitate e mentre la prima è, per lo più, di color rosso chiaro o scuro, la seconda, aumentata di altezza, è grigia pallida, chiazzata di giallo e di bianco. Le parti grigie sono trasparenti, asciutte ceree, vitree, opache; quelle bianche e quelle gialle sono opache. Quando gli epiteli sono meno intensamente degenerati, il colore può essere grigio pallido (rene lardaceo, cereo).

La degenerazione consiste in una infiltrazione di sostanza amiloide in alcune parti dell'apparato connettivo vascolare del rene. Per primi, per quanto in

modo assai ineguale, si trovano colpiti i glomeruli. In altri casi si trovano degenerati quasi esclusivamente i vasi retti della sostanza midollare. Infine possono alterarsi tutti i vasi, arteriosi, venosi e capillari, specialmente della corticale, con conseguente restringimento e parziale obliterazione del lume vasale. Gradi intensi di degenerazione amiloide si associano molto frequentemente con stadi degenerativi (degenerazione ialino-granulosa, grassa e lipoidea) dell'epitelio tubulare e, allorchè i sintomi nefritici sono molto accentuati, si parla anche di *nefrite amiloide*. Invece, nei casi lievi di infiltrazione amiloide senza alterazione del tessuto interstiziale e degli epiteli, con predominante partecipazione dei vasi retti e a glomeruli risparmiati, non si producono fenomeni rilevabili clinicamente.

Le *capsule surrenali* si ingrossano, si induriscono, divengono vitree, di color grigio chiaro. La sostanza amiloide si deposita nelle pareti dei vasi sanguigni e nel tessuto connettivale. Le parti colpite dal processo degenerativo si rigonfiano e producono, per compressione sul parenchima circostante, l'atrofia delle travate cellulari. La corticale, e precisamente la sua parte più interna, è quasi esclusivamente attaccata, mentre di rado si riscontrano alterazioni anche nella midollare, limitate, in ogni caso, alla parete dei singoli vasi.

Nella degenerazione amiloide delle *ghiandole linfatiche,* queste si fanno dure, di aspetto lardaceo. Le parti connettivali della sostanza follicolare, come i capillari e le pareti delle arterie, divengono vitree. Le fibre del reticolo si rigonfiano divenendo nodose, poi si dividono in zolle, assumono una forma tozza, scacciano le cellule contenute nelle maglie e premono su queste in modo da ridurle a sottili fessure; i follicoli contengono focolai amiloidi più piccoli e centrali.

L'*intestino,* alcune volte, non appare alterato macroscopicamente. Altre volte, il tenue si presenta pallido, vitreo; il crasso è un poco rigido, tumefatto, anch'esso pallido e vitreo, oppure di un colorito grigio e grigio nero diffuso o a chiazze. Il processo degenerativo può colpire i vasi, come pure lo stroma connettivale della mucosa, specialmente anche i villi, la sottomucosa e, spesso, pure la muscolare. L'ileo si ammala più frequentemente di tutte le altre parti dell'intestino. In genere i follicoli linfatici e le placche del Peyer restano indenni.

Abbiamo già detto che la amiloidosi è una alterazione che si riscontra, in una certa percentuale di casi, nel corso di malattie esaurienti ad andamento cronico. Tra queste malattie, quella in cui con una certa frequenza capita di vedere una degenerazione amiloide, è la tubercolosi nelle sue forme più gravi. Il processo degenerativo si produce in determinati stadi della malattia. Per la tubercolosi dell'apparato respiratorio, si riscontra, con maggiore frequenza, nelle forme con vaste escavazioni in cui ristagnano i secreti per insufficiente drenaggio da parte dei bronchi o in quelle accompagnate da bronchiectasie estese e con secrezione molto abbondante o nelle forme complicate da empiema cronico, anche se circoscritto. Più spesso che nella forma polmonare, l'amiloidosi si riscontra nella tubercolosi ossea o osteo-articolare specie se accompagnata da ampie raccolte purulente fistolizzate e in preda a infezione secondaria.

La diagnosi di questa complicanza qualche volta sfugge in vita se il quadro degenerativo non si è ampiamente esteso ai vari organi e non dà manifestazioni evidenti. Non sempre, infatti, una semplice epatomegalia può essere interpretata come causata da amiloidosi, senza che esista un concomitante quadro sintomatologico a carico della milza e del rene. L'alterazione di un singolo organo, anche se in effetti dovuta a invasione di sostanza amiloide, non fornisce mai dati certi per stabilire la presenza di questo processo degenerativo. E' sull'insieme di diversi sintomi, a carico di organi diversi, che abitualmente si basa la diagnosi clinica.

Riuscire, quindi, a porre una diagnosi di amiloidosi, anche nei suoi stadi iniziali, è senza dubbio una questione di un certo interesse. Oltre i comuni dati clinici che, come abbiamo detto, qualche volta possono lasciare un margine di incertezza, esistono alcune prove di laboratorio che portano un contributo definitivo nell'accertamento della lesione degenerativa.

Molto bene risponde allo scopo il metodo di indagine con il Rosso Congo.

Nel 1915, KEITH, ROWNTREE e GERAGHTY, usando il Rosso Congo per la determinazione del volume sanguigno, trovarono che tale sostanza, iniettata nel torrente circolatorio, viene omogeneamente distribuita nel plasma in quattro minuti, comincia a sparire in dieci minuti e, nei soggetti normali, non si riscontra più nel sangue al termine delle 24 ore.

BENNHOLD, nel 1923, studiando il comportamento del Rosso Congo in condizioni sia normali che patologiche, arrivava alla conclusione che abitualmente, in soggetti sani, dall'11 al 30 per cento del colore sparisce dal sangue già un'ora dopo l'iniezione e che una scomparsa

di colore al di sopra del 60 per cento indica la presenza di degenerazione amiloide. Secondo BENNHOLD, una rapida scomparsa del colore è dovuta direttamente ad assorbimento di questo da parte della sostanza amiloide. Egli afferma che il colore filtra rapidamente dal sangue attraverso l'endotelio dei capillari che, in questi casi, è notevolmente compromesso. L'assenza della caratteristica scomparsa del colore depone per uno stato degenerativo poco esteso e, principalmente, contro la compartecipazione del fegato. Una amiloidosi dei reni soltanto, per esempio, non è sufficiente a dare la reazione tipica. La conferma a queste ricerche cliniche e di laboratorio fu portata dal controllo autoptico di solo nove casi, in sei dei quali, in cui il colore era rapidamente scomparso, potè dimostrarsi una amiloidosi.

Nel 1925, SCHOENBERGER e ROSENBLATT confermarono i risultati di BENNHOLD studiando l'argomento in un piccolo numero di casi. Essi arrivarono alla conclusione che il colore sparisce dal sangue in proporzione superiore al 41 per cento nei casi di amiloidosi, contro l'11-29 per cento nei soggetti normali. Questi Autori, però, non parlano di conferma autoptica.

Nel 1927, BOOKMAN e ROSENTHAL hanno usato questo metodo in 18 individui sofferenti di diverse malattie. Da queste ricerche è risultato che la maggiore percentuale di assorbimento si è notata nei pazienti affetti da tubercolosi ossea e polmonare, e che proprio questi casi, salvo poche eccezioni, mostravano segni clinici di degenerazione amiloide. Non ostante il fatto che dei 18 soggetti studiati, soltanto in uno il riscontro anatomico ha confermato la presenza di amiloide, gli Autori concludono che la scomparsa di più del 60 per cento di colore dal sangue nel periodo di un'ora si riscontra soltanto in presenza di degenerazione amiloide, con la riserva, però, che una percentuale minore non esclude del tutto tale evenienza.

SHAPIRO nel 1930 ha osservato con questo metodo sei pazienti affetti da varie malattie e, senza accennare ai risultati ottenuti quantitativamente, afferma che la degenerazione amiloide produce un assorbimento del colore nel termine di un'ora.

WALLACE, nel 1932, ha adottato il metodo del Rosso Congo in una serie di 35 bambini tubercolosi, di cui 28 erano colpiti da stadi avanzati di tubercolosi ossea e ghiandolare con formazione di fistole e gli altri 7, tenuti come controllo, erano affetti da tubercolosi chirurgica recente, senza formazione di fistole. Nel gruppo delle lesioni chirurgiche avanzate, l'assorbimento del Rosso Congo è andato dal 5 al 100 per cento e i segni clinici di amiloidosi erano presenti solo in quei casi il cui assorbimento era contenuto nei limiti dal 38 al 100 per cento. Nei 7 casi di lesioni recenti, che pure avevano processi specifici a carico delle ossa o delle ghiandole, la percentuale di assorbimento si è mantenuta in cifre che vanno dall'11 al 28 per cento. In questo più ampio studio, si è avuta la conferma autoptica soltanto in due casi, in cui, con un assorbimento del 100 per cento, si è trovato un reperto positivo per la degenerazione amiloide.

Attualmente, quindi, un assorbimento del 50 per cento o più, è comunemente accettato come una prova conclusiva per la presenza di amiloide.

Nel 1934, ROSENBLATT, in un'ampia rivista della letteratura riguardante gli aspetti clinici della amiloidosi, afferma: « Una diagnosi di amiloidosi non può esser posta se una quantità di colore superiore al 50 per cento non viene ritenuta nei tessuti nel termine di un'ora. A causa di questa possibilità di stabilire in vita una diagnosi definita, la degenerazione amiloide viene considerata come una sindrome clinica ».

BOYD nel 1935 dice che la diagnosi clinica di amiloidosi può essere confermata dalla prova del Rosso Congo se il 60 per cento o più di colore sparisce dal sangue in capo a un'ora.

Ricerche in limiti più vasti sono state eseguite nel 1937 da FRIEDMAN e AUERBACH e da TARAN in un sanatorio americano in cui, per la massa di pazienti affetti da tubercolosi polmonare in fase avanzata, la amiloidosi è stata riscontrata con una relativa frequenza e la prova del Rosso Congo è stata usata estensivamente ai fini di confermare o escludere la diagnosi clinica di amiloidosi. E' stato osservato che in qualche caso in cui era stata fatta la diagnosi

clinica di amiloidosi, rafforzata da una percentuale di 60-70 per cento di assorbimento di colore, è mancata poi la conferma istologica alla autopsia. Si è pensato, allora, di estendere l'esperimento su una più larga scala, non soltanto in quei casi in cui si sospettava clinicamente la presenza di degenerazione amiloide, ma anche in tutti i casi gravi in cui era possibile, naturalmente, eseguire l'indagine. Scopo di questa ricerca è stato quello di stabilire in termini più esatti la percentuale di assorbimento di Rosso Congo, in rapporto alla eventuale presenza di amiloide nei vari organi, controllati al riscontro autoptico. LIPSTEIN e AUERBACH, infatti, hanno riportato i risultati di 73 autopsie di soggetti il cui quadro clinico predominante era la tubercolosi polmonare con le sue varie complicazioni e nei quali era stata eseguita la prova del Rosso Congo. Al controllo anatomico è stata riscontrata degenerazione amiloide in 20 casi, in 15 dei quali l'assorbimento era stato del 100 per cento, in uno del 95 per cento, in 3 del 90 per cento e in uno del 35 per cento.

Nel 1938 LIPSTEIN riportava i risultati di ricerche in 125 casi controllati poi al tavolo anatomico. Di questi, in 34 era presente una degenerazione amiloide, con assorbimento di colore del 100 per cento in 24 casi, tra il 90 e 100 per cento in 5 casi, dell'82 per cento in un caso, del 60 per cento in un caso e del 35 per cento in 3 casi.

I risultati ottenuti dagli autori americani, su un numero di casi notevolmente maggiore, e con la indiscutibile conferma del controllo anatomico, sono sensibilmente diversi da quelli ottenuti dai precedenti ricercatori e circoscrivono la positività della prova per la diagnosi di amiloidosi, in limiti di assorbimento che vanno, in genere, dal 90 al 100 per cento.

Data la relativa scarsità delle ricerche sull'argomento e dato anche il valore pratico che può avere una diagnosi precoce di amiloidosi, soprattutto quando la mancata concomitanza dei sintomi può rendere molto incerta una diagnosi esclusivamente clinica, abbiamo voluto riprendere l'esperimento cercando di attuarlo in un numero abbastanza vasto di casi.

Il metodo usato nella ricerca è stato quello indicato da BENNHOLD. Nelle nostre esperienze abbiamo adottato il seguente sistema: la mattina, a digiuno, viene praticata un'iniezione endovenosa di 10 cc. di una soluzione acquosa di Rosso Congo all'1 %. Dopo 4 minuti dall'iniezione, vengono prelevati 10 cc. di sangue e dopo un'ora altri 10 cc. Si fa orinare il paziente prima dell'iniezione e tre quarti d'ora dopo, per assicurarsi che non venga eliminato il colore attraverso il rene, il che può accadere in caso di lesioni renali concomitanti. Per evitare possibili errori di tecnica, questi due prelevamenti vengono praticati nell'altro braccio rispetto a quello in cui è stato iniettato il Rosso Congo, usando siringhe accuratamente pulite e asciutte. Il sangue prelevato viene passato immediatamente in tubetti paraffinati e centrifugato a lungo per ottenere un siero libero da sostanze coloranti dell'emoglobina. Poichè la presenza di anche piccole quantità di emoglobina nel siero può falsare la prova, FRIEDMANN e AUERBACH hanno usato l'alcool come agente precipitante delle proteine, ottenendo così la certezza che la parte colorata era costituita esclusivamente da Rosso Congo. Ma poichè la quantità di alcool necessaria produce una diluizione troppo forte del colore, TARAN — secondo quanto riferiscono LIPSTEIN e AUERBACH — ha trovato che al posto dell'alcool può essere usato l'acetone in quantità molto minore.

Noi ci siamo orientati verso quest'ultima modificazione e, poichè gli Autori americani non descrivono le quantità usate, dopo vari tentativi, abbiamo definitivamente adottato il metodo seguente: al siero di sangue viene aggiunto acetone in proporzione del doppio, in volume, del siero. Dopo accurata centrifugazione, viene separata la parte liquida dall'abbondante sedimento costituitosi in seguito alla precipitazione delle sostanze proteiche. A questa parte liquida viene aggiunto ancora acetone in rapporto, questa volta, della metà del volume del siero, allo scopo di eliminare gli eventuali residui di sostanze proteiche. Una nuova centrifugazione lascia separare, infatti, uno scarsissimo sedimento al di sopra del quale è facile ottenere una soluzione colorata perfettamente limpida e certamente priva di tracce di emoglobina.

In pratica ci siamo regolati in questo modo: a 4 cc. di siero abbiamo aggiunto 8 cc. di acetone e dopo omogeneizzazione accurata con una bacchettina di vetro abbiamo centrifugato per 10 minuti a 2000 giri. Dopo aver separato dal sedimento la parte liquida, a 4 cc. di questa, abbiamo aggiunto 2 cc. di acetone e, previa nuova omogeneizzazione, abbiamo centrifugato per altri 10 minuti a 2000 giri. Il liquido ottenuto da questa seconda centrifugazione viene usato per la lettura. Per la determinazione della percentuale di colore, abbiamo adoperato il colorimetro di Dubosq, prendendo il siero prelevato 4 minuti dopo l'iniezione di Rosso Congo, come campione al quale viene paragonato il siero prelevato dopo un'ora.

All'inizio della nostra ricerca abbiamo voluto adottare anche il metodo di STRASSER, indicato da FABRIS nelle sue ricerche sulla diagnosi di forma della tubercolosi polmonare mediante il Rosso Congo. In questo

metodo la lettura viene eseguita sul plasma di sangue previamente citratato. In alcuni casi abbiamo adottato i due metodi contemporaneamente, sullo stesso campione di sangue, con i risultati seguenti.

| | Percentuale di assorbimento: metodo di BENNHOLD modificato: | Percentuale di assorbimento metodo di STRASSER: |
|---|---|---|
| Caso 17 . . . . | 31,3 % | 25 % |
| » 22 . . . . | 36,3 % | 3 % |
| » 23 . . . . | 26 % | 16 % |
| » 86 . . . . | 35,6 % | 22 % |
| » 88 . . . . | 34,3 % | 13 % |
| » 20 . . . . | 100 % | 100 % |
| » 87 . . . . | 27,6 % | 33,3 % |

In cinque casi su sette la percentuale di assorbimento con il metodo di STRASSER è notevolmente inferiore a quella trovata con il metodo di BENNHOLD. In un caso si è trovato un assorbimento del 100 % con tutti due i metodi. Solo una volta si è trovato un assorbimento maggiore con il metodo di STRASSER e questo unico risultato discordante con i precedenti può essere dovuto a errore di tecnica.

Con il metodo di STRASSER, quindi, si nota, in genere, un assorbimento minore e in questa maggiore percentuale di colore presente nel siero di sangue può influire la presenza di emoglobina derivante da parziale emolisi. A convalida di questa supposizione abbiamo voluto trattare il plasma già usato per le determinazioni secondo STRASSER, con le stesse quantità di acetone adoperate nel metodo di BENNHOLD e abbiamo, infatti, raggiunto percentuali che si sono molto avvicinate a quelle già ottenute con questo secondo metodo. Il che sta a dimostrare che, con la precipitazione delle sostanze proteiche, si eliminano cause di errore dovute alla presenza di emoglobina nel siero in esame.

Per questa ragione, quindi abbiamo preferito adottare nella nostra ricerca il metodo di BENNHOLD modificato con aggiunta di acetone al siero.

I pazienti osservati sono stati complessivamente 130, tutti malati di tubercolosi polmonare nelle sue varie forme e complicanze. Nella nostra indagine abbiamo trattato, in prevalenza, soggetti in stato avanzato e grave di malattia, ma accanto a questi abbiamo voluto mettere anche un piccolo gruppo di individui affetti da forme lievi di tubercolosi polmonare, scarsamente attiva, in modo da avere la possibilità di stabilire dei controlli.

Per ragioni di spazio, omettiamo l'elenco completo dei casi trattati, facendo presente che ogni indicazione di ordine numerico si riferisce al posto che il caso occupa nel protocollo delle esperienze.

La percentuale di assorbimento di colore, nei casi studiati, è andata da un minimo di 11 per cento, a un massimo del 100 per cento, nelle proporzioni seguenti:

| Percentuale di assorbimento di Rosso Congo | Numero dei casi |
|---|---|
| 0-10 . . . . . | — |
| 11-20 . . . . . | 15 |
| 21-30 . . . . . | 34 |
| 31-40 . . . . . | 45 |
| 41-50 . . . . . | 12 |
| 51-60 . . . . . | — |
| 61-70 . . . . . | 1 |
| 71-80 . . . . . | — |
| 81-90 . . . . . | — |
| 91-99 . . . . . | — |
| 100 . . . . . | 23 |

Nella grande maggioranza si è avuto assorbimento nelle percentuali comprese tra il 10 e il 50 per cento, con predominio assoluto nelle cifre comprese tra il 30 e il 40 per cento. Non sono state riscontrate percentuali maggiori al 50 per cento, ad eccezione di un caso (61), con il 60,3 per cento.

In 23 casi abbiamo trovato un assorbimento totale di colore dopo un'ora dalla iniezione di Rosso Congo. In alcuni di questi (casi 20, 116), è stata osservata una notevole scomparsa del colore già nel primo campione di sangue prelevato solo 4 minuti dopo la iniezione. Questa rapida scomparsa del colore già nel primo campione, è stata notata anche da altri Autori. LIPSTEIN, nel riportarne tre, afferma che tale evenienza è possibile nei casi con depositi abbondanti di sostanza amiloide nel fegato e nella milza. Alcune volte un tale comportamento si verifica pure in assenza di degenerazione amiloide, fatto spiegabile, secondo BENNHOLD e TAKEDA, con un passaggio del colore nella bile a causa di una maggiore azione escretrice del fegato.

Abbiamo già visto che nella grande maggioranza dei casi, esclusi quelli con assorbimento totale, si riscontra una perdita di colore in percentuali che vanno dal 10 al 50 per cento. Altri Autori (LIPSTEIN e AUERBACH, LIPSTEIN) hanno avuto risultati analoghi, in linea di massima. Essi, però, hanno trovato, sia pure in numero molto ridotto, assorbimenti del 70, 80, 90 e 95

per cento, cifre che noi non abbiamo mai riscontrato, ad eccezione di una pari al 60,3 per cento.

La causa di questo assorbimento di colore in soggetti non portatori di degenerazione amiloide e la variazione delle percentuali, è stata oggetto, specie nella tubercolosi polmonare, di numerosi studi.

WEDEKIND e LÖWENSTEIN, trovando che la eliminazione del Rosso Congo è in funzione della gravità del processo tubercolare, hanno osservato una notevole differenza tra forme produttive ed essudative e hanno proposto questa ricerca come mezzo di indagine clinica per una diagnosi qualitativa della tubercolosi polmonare.

WEDEKIND spiega questo diverso comportamento ammettendo che nella tubercolosi essudativa esiste una insufficienza funzionale dell'apparato reticolo-endoteliale per la quale il colore non viene più fissato dagli elementi del reticolo o solo in scarsa misura, insufficienza funzionale che è appena accennata o del tutto assente nelle forme produttive.

FABRIS, in seguito ad accurate ed interessanti ricerche sull'esplorazione funzionale dell'apparato reticolo-endoteliale e sulla diagnosi qualitativa della tubercolosi polmonare mediante la prova del Rosso Congo, giunge alla conclusione che tale prova è in funzione della gravità della forma morbosa, più che del tipo anatomo-clinico della malattia e che è, quindi, molto discutibile il suo valore come mezzo di diagnosi qualitativa. Ritiene, inoltre, che, più che una diminuita capacità funzionale del sistema reticolo-endoteliale, intervengano in maniera forse prevalente, nella concentrazione del Rosso Congo nel sangue, le sostanze proteiche del plasma.

Nel gruppo dei nostri malati abbiamo riscontrato le percentuali minori di assorbimento proprio nei casi gravi (3, 7, 74, 79, 90, 91, 129), con diffusioni bronco-pneumoniche, ad andamento evolutivo, con febbre e tossiemia spiccata.

Nei 130 soggetti sottoposti alla prova del Rosso Congo, la evoluzione della malattia tubercolare ha avuto il seguente andamento: 80 sono deceduti; 48 si sono sottratti alla nostra osservazione perchè dimessi o trasferiti in altri ospedali; 2 sono tuttora degenti in condizioni più o meno stazionarie.

Degli 80 deceduti, in 78 è stato eseguito il riscontro anatomico, con reperto positivo per l'amiloidosi in 23 casi e negativo in 55.

Il rapporto tra reperto di degenerazione amiloide e percentuale di assorbimento di Rosso Congo, in questi casi, viene riportato nel grafico riprodotto alla pagina seguente.

Questi dati confermano l'osservazione che la degenerazione amiloide, costituente un reperto autoptico piuttosto raro anche nei grandi ospedali generici, rappresenta un riscontro abbastanza frequente negli ospedali sanatoriali. ROSENBLATT, in una serie di 1727 autopsie, ha trovato l'amiloidosi presente nel 7,2 per cento. Ma nei casi di tubercolosi, tale cifra sale al 24,4 per cento, mentre tra i non tubercolosi scende all'1,2 per cento. Sulla base della sua ricerca, egli conclude che la tubercolosi è il maggiore, se non esclusivo, fattore etiologico nella produzione della amiloidosi; constatazione, questa, confermata anche da altri ricercatori.

Su circa 1.000 autopsie seguite nel Sanatorio americano di Sea View, è stata trovata amiloidosi nella proporzione del 20 per cento e nello studio di LIPSTEIN questa cifra sale al 27 per cento.

Nella nostra serie di riscontri anatomici, abbiamo trovato amiloidosi nella percentuale del 29,5 dei deceduti per tubercolosi, reperto che si avvicina a quello osservato dagli altri Autori.

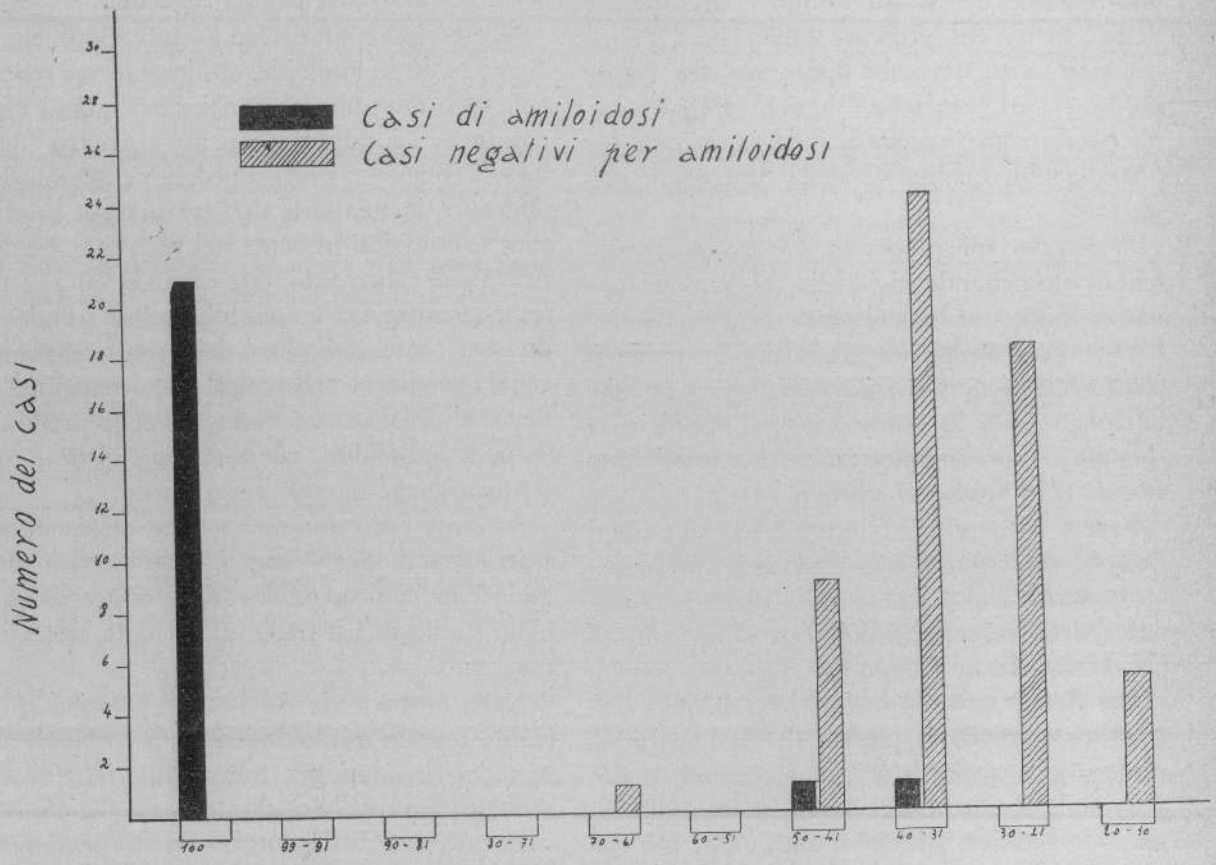
In presenza di degenerazione amiloide si verifica un completo assorbimento di colore nel periodo di un'ora, nella grande maggioranza dei casi. In 21 su 23 casi di amiloidosi accertati al tavolo anatomico, si è avuta una scomparsa totale del colore. In due casi è stata riscontrata degenerazione amiloide con una percentuale di assorbimento relativamente bassa. Tale comportamento, non facilmente spiegabile, è stato notato anche da altri Autori. LIPSTEIN riferisce di 10 casi di amiloidosi accertata, con assorbimento variabile dal 95 al 35 per cento. Dei nostri due casi, uno (65), con un assorbimento del 44 per cento, ha mostrato all'autopsia una amiloidosi di modico grado esclusivamente del fegato e della milza, senza fatti degenerativi a carico del rene e degli altri or-

gani. Una possibile spiegazione per una così bassa percentuale di perdita di colore è quella che non vi erano depositi di sostanza amiloide sufficientemente estesi per poter assorbire totalmente il colore. Inoltre, la prova è stata eseguita circa 7 mesi prima del decesso e vi è la possibilità che tale esame fosse stato fatto prima che si producesse una degenerazione amiloide abbastanza vasta per poter dare un'alta percentuale di assorbimento.

Meno adatto per una spiegazione è l'altro caso (128) che, con un assorbimento del 36 per cento, ha mostrato all'autopsia una grave degenerazione amiloide della milza, del fegato e dei reni. La prova del Rosso Congo è stata eseguita solo un mese prima del decesso e non è facile, in questo caso, pensare che il processo degenerativo si sia prodotto in maniera così vasta, successivamente alla prova stessa. Bisognerebbe ammettere, come in fondo ammette anche LIPSTEIN, un errore di tecnica che non sapremmo, comunque, individuare, dato che in tutti gli esami è stata posta la massima cura nel prelevare il sangue nell'altro braccio, rispetto a quello in cui è stato iniettato il colore, usando siringhe diverse da quelle servite per l'iniezione.

Nei casi di amiloidosi accertati anatomicamente, l'organo maggiormente invaso dal processo degenerativo è stato il fegato, seguito dalla milza, dai reni, dalle capsule surrenali e dagli altri organi. In tutti i riscontri anatomici, ad eccezione di uno, l'amiloidosi è stata diagnosticata chiaramente con la prova macroscopica, trattando, cioè, gli organi in esame con liquido di Lugol e successivamente con una soluzione concentrata di acido solforico. Nel caso 69, invece, in cui già clinicamente si poneva la diagnosi di amiloidosi e in cui la prova del Rosso Congo dava un assorbimento di colore del 100 per cento, la prova macroscopica è risultata negativa.

L'esame microscopico, invece, dei preparati



istologici del fegato e della milza è risultato positivo per la presenza di degenerazione amiloide.

Riportiamo una breve descrizione di questi preparati:

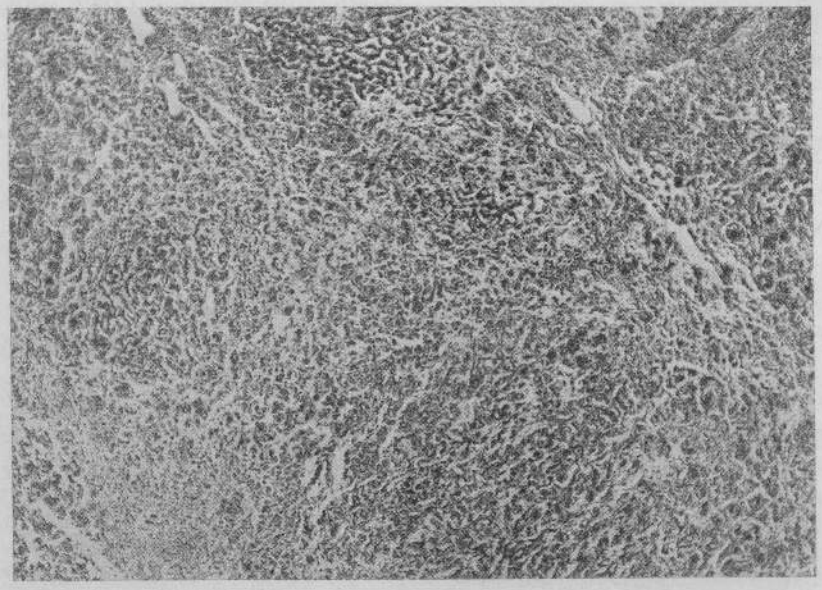


Fig. 1.

Fig. 2.

*Fegato* (colorazione con il violetto di metile: figure 1-2). — Il tessuto epatico appare profondamente alterato al punto da lasciare appena intravedere l'aspetto dell'organo. Infatti si riconosce, a piccolo ingrandimento, qua e là una configurazione lobulare ed inoltre sono ben riconoscibili gli spazi del Kiernan. La struttura a travate cellulari intralobulare è del tutto scomparsa. Si riscontra, invece, una enorme quantità di blocchi di aspetto vario, allungato, poligonale, circolare, a mezza luna, a cordone, ecc., di sostanza anucleata, colorata elettivamente in rosso, con la colorazione citata. Il parenchima epatico è rappresentato da residui irregolari e gravemente deformati di travate cellulari che sono divaricate, spostate, compresse dalla enorme quantità della sostanza amiloide. Esaminando a forte ingrandimento il preparato per studiare la morfologia delle cellule dei cordoni del parenchima epatico, si nota come queste siano anche esse mal riconoscibili per l'indecisione dei loro contorni e gravemente lese, soprattutto per l'irregolarità della loro forma, dei loro

R. BIBLIOTECA ROMA

contorni, dei loro componenti nucleari che mostrano qua e là irregolarità e differenze di colorazione dei costituenti cellulari, rilievi che, d'altronde, si riscontrano bene anche nelle sezioni trattate con le altre colorazioni elettive. Si rileva, inoltre, notevole riempimento vasale.

*Milza* (colorazione con violetto di metile: fig. 3). — Le lesioni della milza sono molto meno spiccate. A parte un ispessimento della capsula e dei setti, nonchè un notevole riempimento vasale, si riscontra, con la colorazione elettiva, che la deposizione della sostanza amiloide, in quantità notevolmente inferiore a quella del fegato, è avvenuta quasi esclusivamente nella parete dei vasi. Essa appare, a seconda della sezione dei vasi, o sotto forma di strie o sotto forma di deposizioni anulari.

Non si riscontra amiloidosi dei follicoli.

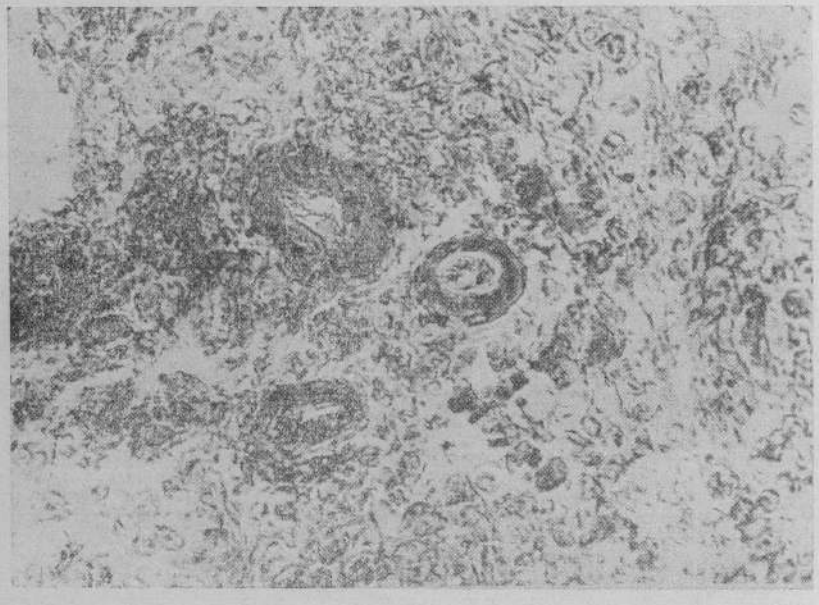


Fig. 3.

Interessante è osservare la forma clinica della malattia nei 23 casi in cui è stata riscontrata degenerazione amiloide, soprattutto tenendo conto della eventuale compartecipazione di focolai suppurativi. Diciamo subito che nella grande maggioranza dei casi il quadro patologico dominante è stato quello di una tubercolosi ulcero-fibro-caseosa bilaterale, grave, con tossiemia, senza particolari complicazioni. Soltanto in 4 casi erano presenti anche focolai di suppurazione: il caso 5 presentava una tubercolosi caseosa bilaterale, prevalente a destra, trattata con pneumotorace terapeutico destro e complicata, successivamente, da tubercolosi pleurica con versamento prima purulento e poi emorragico; nel caso 12 si trattava di una tubercolosi ulcero-fibrosa destra e fibrotorace cavitario sinistro esito di piopneumotorace; il caso 43 mostrava una tubercolosi fibro-ulcerosa destra e un fibrotorace parziale sinistro da pregresso piopneumotorace. A questi 3 casi di tubercolosi polmonare grave complicata da empiema, va aggiunto un quarto caso (95) in cui il quadro polmonare ha avuto un ruolo secondario nella gravità della malattia. Si trattava, infatti, di una fibrosi polmonare di modico grado con esiti di pleurite essudativa destra, complicata da carie costali multiple fistolizzate e da altri focolai ossei con fistole nella regione lombare destra e nella coscia sinistra.

In 3 casi (37, 38, 69), oltre la forma tubercolare rappresentata in tutti da lesioni fibro-ulcerose bilaterali, era presente una infezione luetica, fattore, questo ultimo, che può certamente avere influito sulla insorgenza del processo degenerativo.

In parecchi soggetti la prova del Rosso Congo è stata ripetuta a distanza di tempo e, in alcuni casi positivi, abbiamo potuto seguire le eventuali modificazioni delle percentuali di assorbimento di colore. Mentre in un caso (20) due prove, eseguite a distanza di 10 mesi l'una dall'altra — e l'ultima 2 mesi prima del decesso —

hanno dato concordemente un assorbimento del 100 per cento, in altri 5 casi vi sono state variazioni notevoli.

Riportiamo le percentuali di assorbimento ottenute nei vari esami:

| | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Caso | 37: | assorb. | 35,6 % | - | assorb. | dopo | 9 | mesi | circa | 100 % |
| » | 38: | » | 35,0 % | - | » | » | 15 | » | » | 100 % |
| » | 48: | » | 15,3 % | - | » | » | 3 | » | » | 100 % |
| » | 50: | » | 27,0 % | - | » | » | 7 | » | » | 100 % |
| » | 73: | » | 16,0 % | - | » | » | 7 | » | » | 25 % |
| | | | | | | | dopo | 15 | mesi | 100 % |

In tutti questi casi bisognerebbe ammettere che all'epoca della prima prova non esistesse ancora degenerazione amiloide e che questa si fosse prodotta successivamente. Simile supposizione è, d'altronde, verosimile, dato che in tutti e cinque i casi riportati la malattia tubercolare si è notevolmente aggravata nel periodo intercorrente tra le varie prove, con febbre elevata continua, diffusione di nuovi focolai ad andamento rapidamente evolutivo e con quadro tossiemico molto accentuato.

***

La conferma del reperto autoptico, dà indiscutibilmente alla prova del Rosso Congo un valore definitivo per la diagnosi di amiloidosi. La concordanza dei risultati, ottenuti su un numero abbastanza elevato di casi, conferma che ad un totale assorbimento di colore nel periodo di un'ora, corrisponde con certezza uno stato degenerativo degli organi. Questa certezza ha senza dubbio un notevole interesse per la pratica clinica, poichè non sempre, specie negli stadi iniziali, è facile porre una diagnosi di amiloidosi basandosi su dati esclusivamente clinici.

Abitualmente, nella pratica quotidiana, si pensa alla degenerazione amiloide quando un individuo, affetto da malattia cronica esauriente o con focolai suppurativi cronici, presenta ingrandimento del fegato e della milza e sintomi renali costituiti da aumentata diuresi, albuminuria notevole, cilindruria con ematuria microscopica e urobilinuria; quando al processo partecipa la mucosa intestinale, si ha diarrea sierosa ostinata.

Ora, se questo insieme di dati corrisponde negli stati degenerativi avanzati, non può certo applicarsi in pieno agli stadi iniziali. Basta, infatti, pensare che il processo degenerativo può coinvolgere in maniera varia i diversi organi o può essere addirittura presente in uno e assente in un altro, in modo da sconvolgere questo quadro sintomatologico.

I controlli autoptici da noi eseguiti, hanno, infatti, dimostrato questa possibile variabilità.

Riguardo al sintoma *epatomegalia,* diciamo subito che esso è abbastanza frequente nella tubercolosi polmonare cronica. Senza volerci fermare a ricordare quanto si è scritto sull'argomento, riportiamo solo che Vittorio Ascoli, su 276 casi di tubercolosi polmonare, trovò epatomegalia nel 50 per cento dei casi all'esame clinico, e nel 75 per cento all'esame autoptico. Questa epatomegalia era dovuta, per lo più (80 %), a stasi sanguigna e degenerazione grassa.

Un ingrandimento del fegato, quindi, considerato di per sè solo, non può deporre con certezza per la presenza di amiloidosi. Nella serie delle nostre osservazioni, sono numerosi, infatti, i casi in cui, pur esistendo epatomegalia, all'autopsia non è stata riscontrata degenerazione amiloide. Mentre i casi 27, 45, 60, 66, 67, 71, 84, 89 hanno presentato un modico aumento del fegato, altri (3, 9, 15, 17, 35, 51, 68, 70, 72, 129) hanno presentato un aumento maggiore, fino a volumi notevoli (casi 29, 35) che già clinicamente facevano palpare il margine inferiore all'ombellicale trasversa.

E lo stesso può dirsi dei casi che al riscontro anatomico hanno presentato degenerazione amiloide. Accanto a casi con fegato notevolmente aumentato di volume, con il margine inferiore all'ombellicale trasversa (5, 11, 12, 69), se ne trovano altri (20, 37, 43, 95, 125, 130) in cui il fegato si palpa a due dita trasverse dall'arcata costale, altri (6, 48, 50, 73, 99, 116, 127) a un dito soltanto e altri ancora (38, 40, 65, 114, 115, 128) che lasciano palpare il fegato appena sotto l'arcata costale.

Legata alla frequente alterazione epatica nella tubercolosi, è la *urobilinuria.* Essa, infatti, deve essere considerata, quando non sia presente una aumentata emocateresi, come semplice espressione di una deficienza funzionale del fegato. Tale sintoma, quindi, costituisce un segno generico di alterazione epatica, senza deporre specificatamente per un processo degenerativo in atto. Infatti, la eliminazione di urobilina è fre-

quente specialmente nelle forme gravi di tubercolosi, come hanno visto BRULÉ, MÜLLER, V. ASCOLI, per quanto altri, come POLI, l'hanno riscontrata molto spesso anche in forme pleuropolmonari lievi e circoscritte.

Nei nostri malati venuti al tavolo anatomico, tra quelli in cui non è stata riscontrata degenerazione amiloide, abbiamo trovato urobilinuria in ben 42 casi su 55 e anche in quantità notevole, come nei casi 26, 94, 121. Nei soggetti in cui l'esame autoptico ha rilevato amiloidosi degli organi, è stata trovata eliminazione di urobilina abbondante nei casi 11, 114, 116, modica nei casi 5, 37, 38, 40, 50, 69, 73, 95, 99, 115, 127, 128, 130, tracce nei casi 6, 12, 43, 48, 65, 125 e in un caso (20), perfino assente.

E' evidente che questa variabilità del reperto di urobilina nei casi di amiloidosi accertata, è in funzione della estensione del processo degenerativo e della intensità del disturbo che esso produce nella funzionalità epatica.

Osservazioni analoghe possono farsi sulla *splenomegalia*. Essa, infatti, anche indipendentemente da altre malattie pregresse o concomitanti, è relativamente frequente nella tubercolosi cronica.

Nella serie dei nostri casi, tra quelli in cui il reperto autoptico non ha riscontrato amiloidosi, in alcuni (10, 24, 26, 58, 66, 72, 80) si palpava la milza all'arcata costale, in altri esisteva netta splenomegalia con polo inferiore a un dito dall'arco (15, 17, 84, 129), a due dita (86) e anche tre dita (104).

Tra i pazienti in cui anatomicamente è stata trovata degenerazione amiloide, in alcuni esisteva netta splenomegalia con milza palpabile a due dita dall'arco (casi 5, 11, 12, 20, 95, 116), a un dito (casi 50, 130) o appena palpabile all'arco (casi 38, 43, 48, 69, 73, 99, 114, 115, 125, 127, 128), mentre in altri (casi 6, 37, 40, 65) la milza era nei limiti fisiologici.

Altro sintoma importante su cui si basa in gran parte la diagnosi di amiloidosi, è l'*albuminuria*. Anche questo dato, però, non può avere, naturalmente, un valore assoluto. Durante il decorso di una tubercolosi polmonare, l'albuminuria può riscontrarsi con una certa frequenza. Ricerche di LABENDZINSKI, su un totale di 1500 malati, hanno trovato albuminuria nel 6,5 per cento dei casi. Questa albuminuria è di origine diversa e il suo significato non è costante. Esistono delle albuminurie che si devono riferire a varie affezioni renali, altre sono di natura specificatamente tubercolare. I dati clinici e lo stesso esame delle urine non bastano a stabilire una diagnosi certa di natura.

Abitualmente, in presenza di albuminuria massiva con cilindruria, senza aumento del tasso azotemico, si pensa a una nefrite amiloide. Ma non sempre, nè esclusivamente, tale processo degenerativo dà questo quadro. Una nefrosi lipoidea può offrire una sintomatologia difficilmente differenziabile dalla amiloidosi, specie se non esistono segni negli altri organi. Infatti nella nefrosi lipoidea si hanno edemi, albuminuria da 2 a 60 grammi per mille, con o senza cilindruria e con o senza aumento dell'azotemia e della pressione arteriosa, a secondo che si tratti di forme pure o miste (CODONNIS). Nella amiloidosi renale, secondo ABRAMI, BERTRAND, FONTAINE, LICHTWITZE e LAUDAT, il solo sintoma costante è l'albuminuria che spesso esiste da sola e il cui tasso varia da 2 a 50 grammi nello stesso soggetto. Gli altri sintomi urinari mancano completamente e l'urea sanguigna è normale. L'albuminuria può essere accompagnata da edemi, alcune volte da poliuria e da pressione arteriosa quasi sempre normale. L'esame del sedimento urinario, contrariamente a quanto hanno affermato altri Autori, solo qualche volta fa riscontrare cilindri. Esistono, inoltre, forme azotemiche, secche, senza edemi. In base a quanto affermano i citati Autori, quindi, il solo sintoma utile ai fini diagnostici è l'albuminuria, potendo mancare gli altri, quali la cilindruria, la poliuria e l'aumento dell'urea.

Nei casi da noi studiati, tra quelli con reperto autoptico negativo per l'amiloidosi, in 12 abbiamo osservato albuminuria che, in ogni modo, non è stata mai massiva. Tra i soggetti che all'autopsia sono risultati positivi per l'amiloidosi, è stata trovata albuminuria notevole nel caso 116 con il 9 per mille di albumina, nel 73 e nel 130 con il 7 per mille, nel 125 con il 5 per mille, nel 128 con il 4,5 per mille, nel 5 e nell'11 con il 4 per mille, nei casi 12, 37, 69, 95 con tassi dall'1 al 3 per mille, nei casi 6, 20,

38, 43, 50, 99, 114 in tracce non dosabili e infine nei casi 40, 48, 65, 115, 127 assente.

L'esame microscopico del sedimento ha posto in evidenza una *cilindruria* solo in 3 casi, tra quelli in cui è stata riscontrata anatomicamente una degenerazione amiloide. Nel caso 73 sono stati trovati nel sedimento numerosissimi cilindri ialino-granulosi; nel caso 116 rari cilindri ialini e, infine, nel caso 125 un discreto numero di cilindri ialini e ialino-granulosi. Dal comportamento osservato nei nostri casi, si può concludere che la cilindruria rappresenta un sintoma piuttosto incostante e raro e, quindi, di scarsa importanza.

Il *tasso azotemico* è stato osservato in tutti i nostri soggetti. Tra quelli che al reperto autoptico non hanno mostrato degenerazione amiloide, ma che avevano albuminuria più o meno accentuata, l'azotemia è stata sempre bassa, oscillando nei limiti di gr. 0,35 per mille del caso 28 e di gr. 0,22 del caso 98.

Tra i casi che al riscontro anatomico sono risultati positivi per l'amiloidosi, l'azotemia non ha mai raggiunto cifre elevate. Il tasso maggiore è stato raggiunto dai casi: 6 con gr. 0,62 per mille; 43 e 69 con gr. 0,49 per mille; 95 con gr. 0,47 per mille.

La *pressione arteriosa* non ha mostrato un particolare comportamento e si è mantenuta in quei limiti che sono normali nei soggetti tubercolosi. Infatti, mentre fra quelli senza degenerazione amiloide, ma con albuminuria, si sono avute oscillazioni di Mx. 125, Mn. 70 del caso 35 e di Mx. 98, Mn. 65 del caso 44; tra i soggetti con degenerazione amiloide accertata, la cifra massima è stata raggiunta nel caso 48 con Mx. 130, Mn. 80. Da notare che proprio questo caso era uno di quelli che non presentavano affatto albuminuria.

Nei pazienti con amiloidosi accertata, il rapporto tra albuminuria, tasso azotemico e pressione arteriosa è stato il seguente:

| | albuminuria | azotemia | pressione arteriosa |
|---|---|---|---|
| Caso 5: | gr. 4,0 °/₀₀ | gr. 0,40 °/₀₀ | Mx. 120 Mn. 85 |
| » 11: | » 4,0 °/₀₀ | » 0,22 °/₀₀ | » 105 » 65 |
| » 69: | » 1,5 °/₀₀ | » 0,49 °/₀₀ | » 120 » 68 |
| » 73: | » 7,0 °/₀₀ | » 0,35 °/₀₀ | » 115 » 65 |
| » 95: | » 2,0 °/₀₀ | » 0,47 °/₀₀ | » 110 » 70 |
| » 116: | » 9,0 °/₀₀ | » 0,28 °/₀₀ | » 105 » 65 |
| » 125: | » 5,0 °/₀₀ | » 0,28 °/₀₀ | » 105 » 68 |
| » 128: | » 4,5 °/₀₀ | » 0,18 °/₀₀ | » 110 » 68 |
| » 130: | » 7,0 °/₀₀ | » 0,28 °/₀₀ | » 105 » 65 |

Come si vede, anche nei casi di albuminuria piuttosto accentuata, il tasso azotemico e la pressione arteriosa si mantengono in cifre costantemente modeste. Il che è una nota caratteristica della amiloidosi renale. Solo in un caso (11), l'azotemia bassa all'inizio della osservazione, pur essendo presente un'albuminuria del 4 per mille, è salita, tre mesi dopo — a tre giorni di distanza dal decesso — a gr. 3,32 per mille. Nessun altro dei casi da noi osservati ha avuto un simile comportamento. Un caso simile, invece, viene riferito da LEMIERRE, LEON KINDBERG e collaboratori. Si trattava di una amiloidosi renale in un soggetto portatore di pneumotorace terapeutico complicato da empiema, con albuminuria semplice, che, dopo un certo periodo di equilibrio, ha avuto aumento della temperatura, azotemia acuta e morte.

La irregolarità dei sintomi riferibili a lesioni renali, dimostra quanto questi siano poco sicuri per una diagnosi generica di amiloidosi. Infatti, non sempre l'amiloidosi renale, a cui si riferiscono i sintomi accennati, accompagna la degenerazione amiloide degli altri organi. Secondo LEON KINDBERG, le lesioni massive di amiloidosi viscerale precedono quelle del rene. Per questo Autore il processo polmonare determina una profonda alterazione del sangue che provoca prima l'amiloidosi del fegato e della milza e poi del rene, dove sembra essere preceduta da un processo di nefrite epiteliale.

Neanche i sintomi renali, quindi — e sono proprio questi sui quali abitualmente si pone la diagnosi — possono costituire un fattore certo per affermare la presenza di amiloidosi. Il processo degenerativo, infatti, può involvere soltanto gli altri organi e lasciare indenne il rene.

E' pur vero che una diagnosi non può basarsi che su un insieme di sintomi, ma è anche vero che la totalità di essi si osserva solo nelle forme conclamate e avanzate di amiloidosi degli organi, mentre raramente si riscontra nelle forme iniziali o parziali.

Non sempre, in presenza di una semplice epatomegalia o splenomegalia o anche con tutti e due questi sintomi di più o meno alto grado, ma senza il minimo segno renale, si può affermare con certezza una degenerazione amiloide. Abbiamo già visto con quanta frequenza possa

riscontrarsi una epatomegalia nei tubercolosi e come una modica splenomegalia sia tutt'altro che rara senza che, tuttavia, esista contemporaneamente una amiloidosi di tali organi. Come pure, in casi come il 75, con fegato palpabile all'ombellicale trasversa e discreta albuminuria, non si è trovato, al reperto autoptico, alcun segno di degenerazione amiloide.

Di tutti i 23 casi, che al riscontro anatomico hanno mostrato amiloidosi degli organi viscerali, riportiamo in tabella i vari dati sintomatologici:

| Casi | Percentuale di assorbimento di Rosso Congo | Epatomegalia | Splenomegalia | Urobilinuria | Albuminuria | Cilindruria | Azotemia | Pressione arteriosa |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 5 | 100 % | omb. trasversa | 2 dita | + + | 4 ‰ | assente | 0,40 ‰ | Mx. 120 Mn. 85 |
| 6 | » » | 1 dito | assente | + | tracce | assente | 0,62 » | » 110 » 70 |
| 11 | » » | 4 dita | 2 dita | + + + + | 4 ‰ | assente | 0,22 » | » 105 » 65 |
| 12 | » » | omb. trasversa | 2 dita | + | 1 ‰ | assente | 0,20 » | » 100 » 60 |
| 20 | » » | 2 dita | 2 dita | assente | tracce | assente | 0,30 » | » 120 » 70 |
| 37 | » » | 2 dita | assente | + + | 0,5 ‰ | assente | 0,32 » | » 95 » 50 |
| 38 | » » | all'arco | all'arco | + + | tracce | assente | 0,28 » | » 115 » 55 |
| 40 | » » | all'arco | assente | + + | assente | assente | 0,26 » | » 120 » 65 |
| 43 | » » | 2 dita | all'arco | + | tracce | assente | 0,49 » | » 105 » 65 |
| 48 | » » | 1 dito | all'arco | + | assente | assente | 0,45 » | » 130 » 80 |
| 50 | » » | 1 dito | 1 dito | + + | tracce | assente | 0,37 » | » 105 » 70 |
| 65 | 44 » | all'arco | assente | + | assente | assente | 0,26 » | » 110 » 75 |
| 69 | 100 » | omb. trasversa | all'arco | + + | 1,5 ‰ | assente | 0,49 » | » 120 » 70 |
| 73 | » » | 1 dito | all'arco | + + | 7 ‰ | presente | 0,35 » | » 115 » 65 |
| 95 | » » | 2 dita | 2 dita | + + | 2 ‰ | assente | 0,47 » | » 110 » 70 |
| 99 | » » | 1 dito | all'arco | + + | tracce | assente | 0,20 » | » 100 » 60 |
| 114 | » » | all'arco | all'arco | + + + | tracce | assente | 0,33 » | » 100 » 60 |
| 115 | » » | all'arco | all'arco | + + | assente | assente | 0,38 » | » 105 » 70 |
| 116 | » » | 1 dito | 2 dita | + + + | 9 ‰ | presente | 0,28 » | » 105 » 65 |
| 125 | » » | 2 dita | all'arco | + | 5 ‰ | presente | 0,28 » | » 105 » 70 |
| 127 | » » | 1 dito | all'arco | + + | assente | assente | 0,26 » | » 100 » 65 |
| 128 | 36 » | all'arco | all'arco | + + | 4,5 ‰ | assente | 0,18 » | » 110 » 70 |
| 130 | 100 » | 2 dita | 1 dito | + + | 7 ‰ | assente | 0,26 » | » 105 » 65 |

Volendo considerare come sintomi di presunzione per una diagnosi di amiloidosi una epato-splenomegalia e albuminuria notevole senza aumento del tasso azotemico e senza ipertensione arteriosa, si nota che soltanto in alcuni casi si poteva diagnosticare in vita una degenerazione amiloide sui semplici dati clinici e i comuni esami di laboratorio. Infatti, mentre i casi 5, 11, 12, 95, 116, 130 hanno mostrato la totalità dei sintomi, sia pure più o meno accentuati, altri ne hanno mostrato soltanto alcuni come, per esempio, il caso 20 in cui accanto a una modica epato-splenomegalia non esistono che tracce di albumina; il caso 37 con modica epatomegalia e lieve albuminuria senza splenomegalia; il caso 43 con lieve ingrandimento del fegato e tracce di albumina senza aumento di volume della milza; il caso 69 con notevole epatomegalia senza splenomegalia e con modica albuminuria; il caso 73 con forte albuminuria e senza evidente epato-splenomegalia; il caso 125 con discreta albuminuria e epatomegalia senza splenomegalia; il caso 128 con albuminuria discreta e fegato e milza appena palpabili sotto l'arcata costale. Altri, infine, hanno mostrato dati sintomatologici appena accennati (casi 38, 48, 50, 99), o, addirittura, non hanno avuto alcun sintoma clinico evidente (casi 6, 40, 65, 114, 115, 127, 128).

Come abbiamo già detto, la sintomatologia totale per una diagnosi clinica di amiloidosi è in funzione della diffusione contemporanea del processo degenerativo almeno nei tre organi ipocondriaci principali (fegato, milza, reni), la cui alterazione fornisce quei sintomi sui quali abitualmente si fonda la diagnosi.

La relativa rarità dei sintomi a carico dell'intestino, non ci fanno tener conto di questo altro fattore che, se anche presente, è di solito preceduto dai segni di degenerazione degli altri organi così evidente e diffusa, da farci porre la diagnosi anche prima che compaia la sintomatologia intestinale. Nè questa potrebbe essere

presa in considerazione isolatamente, perchè è noto quanto nei tubercolosi cronici, gravi, siano frequenti le disfunzioni intestinali, sotto forma, specialmente, di diarree profuse.

* * *

Sulla base delle considerazioni su esposte, possiamo affermare che la prova del Rosso Congo rappresenta una indagine di notevole importanza per la diagnosi di certezza di amiloidosi, specie nei casi iniziali in cui la mancanza di alcuni segni clinici renderebbe assai difficile l'accertamento di tale stato degenerativo.

Come abbiamo visto, tale prova ci ha permesso di porre la diagnosi di amiloidosi, diagnosi confermata poi dall'autopsia, anche in casi in cui i dati clinici erano assolutamente insufficienti o del tutto mancanti, tanto da non lasciare neanche sospettare la presenza di questa grave complicazione della tubercolosi.

Aggiungiamo, a questo proposito, che, potendo stabilire con la prova del Rosso Congo lo stato degenerativo, abbiamo visto che esso è già in atto a distanza anche notevole dal decesso. Infatti, nel caso 12, la diagnosi è stata posta 11 mesi prima del decesso; nel caso 20 un anno; nel caso 125 dieci mesi, mentre i casi 25 e 118 si sono dimessi spontaneamente, il primo 18 e il secondo 12 mesi dopo che era stata diagnosticata una amiloidosi degli organi.

La degenerazione amiloide, quindi, anche se fatalmente conduce a un esito letale, permette ancora, in alcuni casi, un periodo più o meno lungo di vita.

Concludendo, tutta la nostra indagine può essere riassunta nei punti seguenti:

1) è stata praticata la prova del Rosso Congo per l'amiloidosi in 130 soggetti malati di tubercolosi polmonare, osservando contemporaneamente in essi la eliminazione della urobilina, la sintomatologia renale e il comportamento del tasso azotemico e della pressione arteriosa;

2) in 78 pazienti sui 130 è stato praticato il controllo autoptico riscontrando amiloidosi in 23 casi, pari al 29,5 per cento;

3) è stato studiato il rapporto tra la percentuale di assorbimento del colore e la presenza o assenza di amiloidosi al riscontro anatomico;

4) in presenza di amiloidosi, la percentuale di assorbimento di Rosso Congo è del 100 per cento. Fanno eccezione due casi con assorbimento del 44 e del 36 per cento;

5) in assenza di amiloidosi, la percentuale di assorbimento del colore va dal 10 al 50 per cento. Fa eccezione un solo caso con assorbimento del 60,3 per cento;

6) la prova del Rosso Congo deve essere ritenuta positiva per una diagnosi di degenerazione amiloide, solo quando, nel termine di un'ora, si ha assorbimento totale del colore;

7) di fronte alla incertezza o alla mancata concomitanza dei vari sintomi clinici, specie negli stadi degenerativi iniziali o parziali, la prova del Rosso Congo rappresenta un coefficiente diagnostico e un dato prognostico di grande e assoluto valore.

*BIBLIOGRAFIA*

KAUFMANN: *Trattato di Anatomia Patologica Speciale*. Ed. Vallardi, 1929. — RONDONI: *Biochimica*. Ed. U.T.ET., 1928. — VERATTI: *Patologia generale*. Ed. Vallardi, 1930. — SACERDOTTI: *Patologia generale*. Ed. U.T.E.T., 1931. — DE PAOLI: *Il fegato nelle malattie tubercolari*. Ed. Fed. Naz. Fasc. lotta c. tbc., 1936. — ROKITANSKY: citato da Sacerdotti, « Patologia generale ». — VIRCHOW: citato da Veratti, « Patologia generale ». — MECKEL: citato da Sacerdotti, « Patologia generale ». — KRAWKOFF: citato da Veratti, « Patologia generale ». — NEUBERG: citato da Veratti, « Patologia generale ». — KUCZYNSKI: « Virchow's Arch. », vol. CCXXXIX, 1922, citato da Rondoni, « Biochimica ». — KUCZYNSKI: « Klin. Woch. », 1923, citato da Rondoni, « Biochimica ». — MORGENSTERN: « Virchow's Arch. », vol. CCLIX, 1926, citato da Rondoni, « Biochimica ». — DOMACK: « Erg. d. inn. Med. u. Kinderheilk. » vol. XXVIII, citato da Rondoni, « Biochimica ». — KEITH, ROWNTREE e GERAGHTY: « Arch. Int. Med. », 1915-16. — BENNHOLD: « Deutsch. Arch. f. Klin. Med. », 1923, CXLIII. — SCHOENBERGER e ROSENBLATT: « Wien. Klin. Wochenschr. », 1925, XXXVII. — BOOKMAN e ROSENTHAL: « Amer. Journ. Med. Scien. », 1927, CLXXIII. — SHAPIRO: « Arch. Int. Med. », 1930, XLVI. — WALLACE: « Lancet », 1932, I. — ROSENBLATT: « Ann. Int. Med. », 1934, VIII. — BOYD: « Pathology of Internal Diseases ». Ed. Lea e Febiger, Filadelfia, 1935. — FRIEDMAN e AUERBACH: « Journ. Lab. and Clin. Med. », 1935, 21. — TARAN: citato da Lipstein e Auerbach. — LIPSTEIN e AUERBACH: « The Quarterly Bull. of Sea View Hosp. », 1937, II, 2. — LIPSTEIN: « Amer. Journ. Med. Scien. », 1938, CXCV, 791. — WEDEKIND: « Klin. Woch. », 1930, 18. — FABRIS: « Policlinico », Sez. Medica, 1934, n. 7. — STRASSER: « Wien. Arch. f. inn. Med. », 1927, citato da Fabris. — TAKEDA: « Japanese Journ. Exp. Med. », 1930, 8. — ROSENBLATT: « Amer. Journ. Med. Scien. », 1933, 196. — ASCOLI V.: « Policlinico », Sez. Medica, 1904, n. 1. — BRULÉ: « Recherches sur les ictères ». Ed. Masson, 1922, citato da De Paoli. — MÜLLER: « Schweiz. Med. Woch. », 1922, 5. — POLI: « Riforma Medica », 1934, 1274. — LABENDZINSKI: « Gruzlica », 1934, I. — CODONNIS: « Bull. et Mém. Soc. Hôp. de Paris », 9, I, 1931. — ABRAMI BERTRAND, FONTAINE, LICHTWITZE e LAUDAT: « Bull. et Mém. Soc. Hôp. de Paris », 10 luglio 1931. — LEMIERRE, LEON KINDBERG, COTTET, MAHONDEAU e CAMPAYER: « Bull. et Mém Soc. Hôp. de Paris, 20 novembre 1931.

60521

R. BIBLIOTECA MEDICA ROMANA