

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCXCVIII.

1901

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME X.

2° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

1901

Patologia. — *L'azione dei farmaci antiperiodici sul parassita della malaria.* Nota VI dei dottori D. LO MONACO e L. PANICHI, presentata dal Socio LUCIANI.

Dopochè Laveran descrisse il parassita della malaria, tutti gli autori che d'allora in poi si occuparono di questa malattia, usufruendo della scoperta dell'agente etiologico, giustamente ammisero che se la chinina riusciva a impedire il ritorno dell'accesso febbrile, la sua azione doveva essere localizzata, sul parassita. Per avvalorare siffatta supposizione si citavano le importantissime ricerche del prof. Binz ⁽¹⁾ eseguite sin dal 1867. Questo illustre farmacologo notò che la chinina in soluzione neutra o debolmente basica è un veleno energico per molti protoplasmii. Aggiungendo a una goccia di *infusione vegetale* contenente molti infusori, una goccia di soluzione 1:200 di chinina, egli osservò al microscopio che i movimenti vivaci di questi esseri si paralizzano istantaneamente, e che il loro protoplasma dopo qualche tempo assume l'aspetto granuloso e si scompone in piccoli detriti. Ritenne poi giustamente che l'azione della chinina sugli infusori era specifica, perchè adoperando altri alcaloidi non si ottenevano i medesimi risultati. Nelle esperienze posteriori Binz dimostrò che quanto meno sviluppati erano gl'infusori, tanto più erano resistenti alla chinina, e che adoperando soluzioni diluitissime di questo alcaloide, i movimenti protoplasmatici degli infusori si facevano ancora più vivaci; per il qual fatto ammise che la chinina si comporta come i veleni paralizzanti i quali in soluzione diluita eccitano, e in soluzione concentrata paralizzano. Riferendo l'azione della chinina sugli infusori ai benefici che con questo alcaloide si ottengono nella cura dei malarici, Binz intuì che l'agente patogeno dell'infezione palustre non poteva essere che un organismo protoplasmatico, sul quale la chinina doveva esercitare un'azione intensamente deleteria.

Le previsioni di Binz furono confermate dall'esperienza, in quanto che da tutti gli studiosi della malaria si osservò che dopo circa 24 ore dalla somministrazione della chinina, i parassiti non si ritrovano più nel sangue circolante. Non tutte le fasi di azione della chinina sui parassiti poterono essere dimostrate. Laveran ⁽²⁾ si limita a farci conoscere che la chinina uccide i parassiti paralizzandone i movimenti. Marchiafava e Celli ⁽³⁾ notano che nei malarici chinizzati, i parassiti sono immobili, e alcuni di essi si trovano

(1) Binz, *Schültze's*, Arch. 1867.

(2) Laveran, *Traité des fièvres palustres*. Paris 1884.

(3) Marchiafava e Celli, Arch. Scienze Mediche, 1886.

come fuoruscanti dal globulo rosso. Baccelli (1) osservando di mezz'ora in mezz'ora il sangue di un individuo a cui aveva fatto un' iniezione endovenosa di 1 grammo di chinina, non riscontrò dopo sei ore nessuna modificazione sensibile nè nel numero, nè nella forma, nè nel movimento ameboide forse più vivace nelle prime 2 o 3 ore. Dopo 24 ore, egli aggiunge, quasi tutti i parassiti erano scomparsi senza aver potuto segnalare una fase di regressione o di morte. Marchiafava e Bignami (2) dopo la somministrazione della chinina, dicono di avere molte volte notato nel sangue circolante un aumento di forme parassitarie necrotiche e di pigmento libero. Mannaberg (3) ammette che i parassiti dopo il chinizzamento possono in un primo momento mostrarsi fortemente eccitati al pari degli infusori trattati con soluzione debole di chinina.

Contemporaneamente a queste ricerche ne furono eseguite altre allo scopo di potere stabilire in vitro l'azione della chinina sui parassiti malarici. Mescolando una goccia di sangue contenente forme flagellate, con una goccia di soluzione di chinina, Laveran vide che i movimenti dei flagelli si arrestavano. Con la medesima tecnica Marchiafava e Celli (4) descrissero l'arresto dei movimenti protoplasmatici delle forme giovanissime dei parassiti malarici, mentre Rosin (5) con soluzioni di chinina 1:5000 concluse che nessuna influenza sul movimento ameboide del parassita, nè su quello dei granuli di pigmento si poteva osservare anche dopo 10 ore dell'aggiunta della chinina nel preparato microscopico. Ma poichè l'immobilità dei parassiti si effettuò parimenti adoperando le soluzioni di cloruro sodico o la semplice acqua distillata, questo metodo di ricerca fu abbandonato, e gli ultimi autori come Romanowski (6), Ziemann (7), Manneberg, Plehn (8) e altri studiarono nei preparati colorati le modificazioni strutturali che subiscono i parassiti dopo la somministrazione della chinina. In questo modo fu dimostrato con evidenza che la chinina ha un'azione necrotica sul protoplasma del parassita malarico.

Come facilmente si può dedurre dal complesso dei risultati finora ottenuti, restano ignote le prime fasi d'azione della chinina sul parassita malarico. Noi abbiamo ripreso questo studio, e nelle 5 Note precedenti (9) abbiamo

(1) Baccelli, *Riforma Medica*, 1890.

(2) Marchiafava e Bignami, *Sulle febbri malariche estivo-autunnali*. Loescher 1892.

(3) Mannaberg, *Die Malaria-Krankheiten*. Wien 1899.

(4) Marchiafava e Celli, *Arch. Scienze Mediche*. 1886.

(5) Rosin, *Deut. Med. Woch.* 1893.

(6) Romanowski, *Zur frage der Parasitologie u. Therapie der malaria*, St. Petersburg. *Medic. Wochensh.* 1891.

(7) Ziemann, *Ueber Malaria u. andere Blutparasiten*. Jena 1898.

(8) Plehn, *Die Kamerum-Küste*. Berlin 1898.

(9) Lo Monaco e Panichi, *Rendiconti Acc. Lincei*, 1° e 2° sem. 1899, 1° sem. 1900, 1° sem. 1901.

mano mano descritto le nostre numerose e pazienti ricerche, i risultati delle quali possiamo brevemente così riassumere. Depositando sul margine del vetrino coprioggetti di un preparato fresco di sangue malarico una goccia di soluzione di chinina, i parassiti malarici fissati nel campo microscopico mostrano di risentirne l'azione. Questa però si manifesta differentemente a seconda del titolo della soluzione chininica. Se questa è debole, allora l'osservazione mostra che il parassita, appena si manifestano le correnti liquide nel preparato, si contrae rapidamente, e torna dopo pochi minuti a riespandersi, emettendo dei pseudopodi più o meno vivacemente; se la soluzione di chinina è di media concentrazione, l'eccitamento del parassita va gradatamente aumentando, e finisce col produrre il distacco di esso dall'eritrocito cui era aderente, il quale si scolora *sempre dopo e mai prima* della caduta nel plasma del parassita; se la soluzione è forte, questo si contrae permanentemente rimanendo attaccato al globulo rosso. Avendo dopo osservato che, col somministrare a un malarico di terzana primaverile una dose di chinina equivalente a quella che *in vitro* produceva il distacco del parassita, si otteneva la scomparsa dell'accesso febbrile; noi ci siamo serviti di questo fenomeno (che rappresenta una delle fasi d'azione della chinina) per stabilire la dose razionale di chinina capace di produrre la guarigione nei vari tipi d'infezione malarica. Inoltre abbiamo osservato che nel medesimo individuo le forme più resistenti alla chinina sono le più piccole, e che negli ammalati di infezione malarica con più generazioni parassitarie (terzana doppia, quartana doppia e tripla, terzana estiva), le forme della stessa fase di sviluppo sono meno resistenti alla chinina in vicinanza dell'accesso febbrile e durante lo svolgersi di esso, mentre nell'apiressia la resistenza raggiunge un limite massimo. Da ciò deducemmo che durante l'accesso febbrile circolano nel sangue sostanze antiparassitarie le quali, dal fatto che in quel periodo, per impedire il ritorno dell'accesso febbrile, occorre una quantità di chinina minore di quella che si deve adoperare durante l'apiressia per ottenere il medesimo scopo, mostrano di essere dotate di azione simile a quella della chinina. L'azione di queste sostanze antiparassitarie si manifesta su tutte le forme malariche e su tutte le specie dei parassiti malarici, ad eccezione di quelle forme giovanissime senza pigmento che si rinvencono nella terzana estiva.

Le forme estive pigmentate invece, resistenti durante l'apiressia all'azione della chinina quanto le altre meno sviluppate, durante l'accesso febbrile s'indeboliscono, e possono farsi staccare dal globulo rosso con soluzioni relativamente deboli di chinina. Con l'insorgere però dei fenomeni di perniciosità, le forme parassitarie estive pigmentate e non pigmentate mostrano una resistenza massima che conservano fino a che l'ammalato non migliora, la qual cosa non abbiamo saputo altrimenti spiegare che ammettendo nello stato di perniciosità l'assenza di produzione di sostanze antiparassitarie o un aumento nelle sostanze finora non dimostrate e di azione opposta alle prime.

Tutte le nostre esperienze furono eseguite servendoci di soluzioni di bisolfato di chinina in acqua distillata. Però non abbiamo mancato sin da principio di notare che i medesimi fenomeni si osservano quando alla soluzione di chinina si aggiunge tanto cloruro sodico da ottenere la non dissoluzione dei globuli rossi contenuti nel preparato di sangue malarico sul quale si sperimentava. Con l'acqua distillata e con la soluzione isotonica 0,90 % di cloruro sodico, contenente chinina, il fenomeno del distacco del parassita, non potè mai essere riscontrato. Incalzati dai risultati che mano mano ottenevamo, non insistemmo su queste prime esperienze. A noi l'aver ottenuto il fenomeno del distacco del parassita con soluzioni clorurate e chinizzate, tali che non scioglievano i globuli rossi del preparato, ci parve sufficiente per escludere che nei nostri risultati dovesse insieme alla chinina influire l'azione dell'acqua distillata. La comunicazione però fatta dal prof. Bignami a nome del dott. Capogrossi nella seduta dell'Accademia Medica di Roma del 26 giugno 1901, ci obbliga a ritornare su queste esperienze.

Bignami e Capogrossi, come risulta dal resoconto della loro comunicazione pubblicata nel *Policlino* e nella *Riforma Medica*, confermano il fenomeno da noi descritto del distacco del parassita, che ha subito l'azione della chinina, dal globulo rosso; ma ritengono che ciò avviene perchè la soluzione di cloruro sodico e di chinina da noi adoperata, ha una concentrazione inferiore a quella che comunemente si adoperava come isotonica al plasma sanguigno. Aggiungono che il fenomeno non si ottiene con la soluzione isotonica (0,90 % di NaCl) chinizzata, mentre si osserva *ora sì, ora no* con la sola acqua distillata.

A queste obiezioni potremmo esaurientemente rispondere, servendoci dei risultati delle esperienze già eseguite. Se infatti, come dicono Bignami e Capogrossi, l'acqua distillata o la soluzione di cloruro sodico sono le condizioni essenziali per potere riuscire ad assistere al distacco del parassita dal globulo rosso, non si riesce a comprendere per quale ragione, tutte le volte che si voleva da noi studiare la resistenza di una forma parassitaria alla chinina, nella serie graduale di soluzioni chininiche di cui disponevamo, solamente alcune, costituenti una porzione della serie suddetta, erano adatte a produrre il fenomeno; mentre le altre di concentrazione più leggiera o più forte ci guidavano a raggiungere lo scopo, facendoci notare le altre fasi d'azione della chinina sul parassita malarico. Medesimamente, se tutti i nostri risultati sono dovuti al solvente e non alla chinina in esso disciolta, perchè le forme estive resistentissime alla chinina non si distaccano dall'eritrocito con quelle soluzioni chininiche leggiera che sono adatte a produrre il medesimo fenomeno nei parassiti della terzana primaverile?

Per noi il fenomeno del distacco di una forma con una data soluzione chininica, non si avvera *ora sì, ora no*. Se le condizioni sperimentali sono buone, ripetendo l'esperienza con le medesime forme e con la medesima so-

luzione, i risultati sono sempre uguali, come si può anche facilmente osservare in certi tratti delle curve che abbiamo riportato nelle Note precedenti.

Altri argomenti, per sostenere il nostro metodo di ricerca e i risultati delle nostre esperienze, potremmo ancora enumerare, ma sarà meglio seguire i nostri contraddittori nelle loro esperienze, e tra queste c'interessa in primo luogo di esaminare per quale ragione Bignami e Capogrossi sono venuti alla conclusione che l'acqua distillata può *ora sì, ora no* produrre il distacco del parassita.

Premettiamo che prima di noi altri autori avevano studiato l'azione dell'acqua distillata sul parassita malarico.

Marchiafava e Celli nella loro prima Memoria sulla malaria ⁽¹⁾ descrivono una loro esperienza in questi termini: « Se al sangue uscente dalla ferita, si mescola una goccia di acqua distillata e poi si dissecca, e si colora col bleu di metilene, allora si vedono insieme ai corpuscoli rossi normali che hanno perduto l'emoglobina e che sono marcati da un contorno sottilissimo, altri che hanno ugualmente perduto l'emoglobina, che sono ugualmente rivelati da un contorno sottilissimo, ma che contengono nel loro interno i corpicciuoli ricordati (parassiti malarici), intensamente colorati in turchino e nettamente distinti ».

Il medesimo risultato fu ottenuto, variando le colorazioni, da questi autori, i quali nella tavola annessa al lavoro fecero riprodurre le figure dei globuli trattati nel modo suddetto. Per Marchiafava e Celli, quindi, i parassiti per l'azione dell'acqua distillata rimangono sempre aderenti agli stromi degli eritrociti. Simili esperienze furono ripetute da Marchiafava e Celli, da Laveran, da Manneberg e da altri allo scopo di studiare l'azione diretta della chinina sul parassita malarico, e da Grassi e Feletti ⁽²⁾ per istudiare la struttura di esso, ma nessuno di questi autori ebbe mai a notare che per azione dell'acqua distillata il parassita si stacca dall'eritrocita. I risultati quindi ottenuti da Bignami e Capogrossi, non solo contraddicono quelli da noi descritti, ma anche quelli dei più noti studiosi della malaria, ai quali faremmo grave torto se per un momento solo pensassimo che non hanno saputo bene osservare. Pur nondimeno non mettiamo in dubbio i risultati delle esperienze di Bignami e Capogrossi, ma preferiamo credere che, se essi qualche volta hanno visto il distacco del parassita dal globulo rosso, depositando una goccia di acqua distillata sul margine del vetrino coproggetti del preparato di sangue malarico, ciò è dipeso dalle cattive condizioni in cui si è compiuta l'esperienza.

Ciò accade quando le correnti liquide che si manifestano nel preparato sono molto violenti. Allora è facile osservare che il parassita aderente al

(1) Marchiafava e Celli, Atti Acc. Lincei, vol. XVIII, 1882-83.

(2) Grassi e Feletti, Atti Acc. Gioenia di Catania, Serie IV, tomo V.

globulo rosso, sul quale abbiamo fissata la nostra attenzione, o viene trasportato dalla corrente al pari degli altri eritrociti normali, o si distacca dal globulo, e si allontana per azione del liquido dal campo microscopico; mentre il globulo, cui era attaccato, resta sul posto e si scolora. Se invece la corrente, che si manifesta nel preparato, dopo aver depositato una goccia di acqua distillata sul margine del vetrino coprogetti, è d'intensità leggera, condizione essenziale perchè simili esperienze diano risultati attendibili, noi possiamo affermare che allora la forma parassitaria resta sempre attaccata al globulo, anche dopo lo scolorimento di esso. Non ci è lecito quindi mescolare i risultati delle prime con quelli delle seconde esperienze, e dire che il parassita per azione dell'acqua distillata si distacca dal globulo rosso *ora sì, ora no*. Nei primi due casi siamo in presenza di un fenomeno fisico, nel terzo caso osserviamo l'azione dell'acqua distillata sul parassita, la quale, come è noto, consiste nel far perdere a questo i suoi movimenti ameboidi.

Che la spinta di un corpo per azione di un liquido in movimento, come avviene nel primo caso, rappresenti un fenomeno fisico, nessuno vorrà oppugnare; che si tratti del pari di fenomeno fisico, quando la corrente strappa il parassita e lascia in sito il globulo, è facile dimostrarlo. Se teniamo presente il fatto già da noi notato, che il globulo parassitifero oppone una forte resistenza alla corrente del preparato, la qual cosa mostra rimanendo sempre nel posto dove si trova, mentre il parassita, quando è libero, si lascia facilmente trasportare da essa; ne viene di conseguenza che, essendo il parassita fuori e non dentro il globulo rosso, la corrente, quando non riuscirà a smuovere questi due corpi come corpo unico, agirà più sul parassita, producendone il distacco, che sul globulo che non si lascia vincere dalla forza di essa. E che il fenomeno del distacco sia in queste condizioni dipendente dalla forza della corrente, lo prova anche il fatto, che mentre per l'azione della chinina il parassita può lasciare il globulo rosso cui era aderente contro la direzione della corrente, ciò mai si osserva quando agisce la sola acqua distillata. Ammettendo invece la sede endoglobulare del parassita, l'azione dell'acqua distillata dovrebbe manifestarsi sempre egualmente, lasciando il parassita in sito o producendone il distacco dal globulo rosso.

Patologia. — *Sul fenomeno dell'agglutinazione nel sangue dei malarici.* Nota dei dottori D. LO MONACO e L. PANICHI, presentata dal Socio LUCIANI.

Questa Nota sarà pubblicata in uno dei prossimi fascicoli.