

10. AZIONE DELLA CHININA SUI PARASSITI MALARICI DURANTE L'INCUBAZIONE.

Noi possiamo attualmente disporre di buoni medicinali antimalarici ma non conosciamo ancora la loro esatta posologia, gli intervalli fra le singole dosi, la durata del trattamento ed il loro meccanismo d'azione, per cui — come osserva Yorke — esistono tanti metodi di trattamento colla chinina, con l'atebrin, con la plasmochina, quanti sono i medici che utilizzano questi medicinali (1).

A sua volta Nocht — che tanti contributi ha portato alla terapia della malaria — così si esprimeva in seno alla Commissione del Paludismo presso la Società delle Nazioni: « Comunque, se fino ad ora non abbiamo ancora un'idea ben netta del modo in cui la chinina agisce sulla malaria, l'esperienza di decine di anni ci fornisce una serie di principi fondamentali che danno affidamento e che dovrebbero essere presi in considerazione nella somministrazione della chinina (2).

Tutto ciò suggeriva la necessità di estendere le ricerche biologiche che nel campo della terapia della malaria non hanno di molto progredito dopo le ricerche del Golgi sull'azione della chinina sui parassiti malarici (3). Golgi si era proposto il compito di studiare in quale stadio di sviluppo i parassiti della malaria erano più facilmente aggrediti dalla chinina ed era giunto alle conclusioni seguenti:

«... I parassiti malarici sentono in misura molto diversa l'azione della chinina a seconda dello stadio di sviluppo in cui si trovano; e precisamente essi sentono tale azione con rapidità e intensità decrescenti come segue:

1) sulle forme più giovani immediatamente derivanti dal processo di segmentazione e sporulazione; queste infatti, non ricompariscono più quali forme giovani endoglobulari per la preparazione di un altro accesso. Sorprese nel loro stato nascente esse sono nel modo più sicuro uccise dal farmaco antimalarico;

2) sulle forme di sviluppo più avanzato, anzi prossime alla maturazione (con completa consumazione della sostanza globulare), ma nelle quali non è ancora incominciato il processo di suddivisione o di differenziamento del protoplasma, processo che ha per risultato finale la segmentazione;

3) sulle forme giovani che hanno già invaso i globuli rossi, ma che, essendo all'inizio dello sviluppo, sono circondate e, per così dire, protette da un grosso strato di sostanza globulare ».

Golgi aveva ancora precisato che l'azione della chinina sui parassiti della terzana non è assolutamente identica a quella che lo stesso farmaco esercita sui parassiti della quartana e la frequente impotenza della chinina, pure somministrata nelle più alte dosi, nelle febbri estivo-autunnali. Egli aveva poi studiato le alterazioni morfologiche causate dalla chinina nei vari stadi di sviluppo dei parassiti malarici mettendo in evidenza che le alterazioni più appariscenti concernono la forma di stadio più avanzato.

« Nello stadio di accrescimento endoglobulare — dice Golgi — può essere notato: una granulosità meno fina del pigmento, uno speciale riflesso grigio metallico di esso, certa opacità del protoplasma spettante al parassita, infine una tendenza al raggrinzimento del globulo contenente e del parassita contenuto; ma, come si vede, trattasi di minuti dettagli o sfumature, che potrebbersi credere di valore subbietivo, le quali certamente, per essere rilevate richiedono pratica in questo genere di osservazioni. Si potrebbe mettere in conto anche la diminuzione e cessazione del movimento ameboide; ma di questo fatto speciale si può tener qualche conto soltanto nei preparati della terzana nei quali, come io ho rilevato a differenza di quanto si osserva nei parassiti della quartana, i movimenti ameboidi sogliono essere vivaci. Per l'influenza della chinina il parassita della terzana presentasi sotto forma di un picciuolo tondeggiate a contorni netti, immobile e con pigmento, che per lo speciale riflesso e per la tendenza a formare dei piccoli cumuli, distinguesi da quello di parassiti nelle ordinarie loro condizioni... ».

Dalle ricerche di Golgi era scaturito il metodo classico della cura della malaria, che può così riassumersi: cura pronta, prolungata, con dosi adeguate di chinina. Se non che in questi ultimi tempi, sopra tutto per opera di Yorke, fu messo in luce che il trattamento con la chinina non deve considerarsi come *therapia sterilisans magna* e che il fattore essenziale per il conseguimento della guarigione è rappresentato dalla capacità dell'ospite a produrre anticorpi, in relazione alla formazione di antigeni

derivanti dalla distruzione di un numero notevole di parassiti operata dalla chinina.

Le ricerche di Yorke, che mostrarono l'utilità di sostituire la « cura prolungata » con « brevi periodi curativi » (3-5 giorni), dopo ogni recidiva, in modo da favorire una più cospicua formazione di antigeni, vennero estese successivamente per opera di James (⁴), che tentò di dimostrare l'inopportunità della « cura pronta ».

« ... per scegliere il miglior trattamento — scrive James — in un caso di malaria nulla ha più importanza della esatta cognizione dello stadio della malattia. La chinina non ha effetti apprezzabili se somministrata durante il periodo di incubazione ed è poco efficace il primo ed anche il secondo giorno della "febbre iniziale". È molto più efficace quando il paziente ha già avuto vari accessi di febbre anzichè nei primi stadi, raggiungendo un massimo risultato difensivo naturale insito nell'organismo umano. Risponde sempre maggiormente una recidiva all'azione della chinina che non un attacco primitivo. La ragione per cui la cura è più facile se la chinina viene somministrata tardi piuttosto che all'inizio del decorso è da ricercarsi nel fatto che gli individui che resistono ad alcuni pochi attacchi acquistano rapidamente proprietà difensive che in gran parte controbattano gli effetti nocivi del parassita. Le esperienze raccolte nella malarioterapia hanno giovato molto ad elucidare questo argomento dimostrando che i pazienti sottoposti a dieci e più attacchi gravi di terzana senza ricevere chinina, acquistarono tale alto grado di potere difensivo naturale, che alcune piccole dosi di chinina bastarono per ottenere la temporanea cura dell'attacco. Il trattamento dovrebbe mirare ad ottenere che i parassiti sviluppino per quanto possibile questo potere difensivo ».

Da quanto ho riassunto scaturiva la necessità di procedere alle seguenti ricerche: a) estendere le indagini di Golgi per precisare in quale stadio di sviluppo il parassita cede più facilmente all'azione dei medicinali; b) controllare se dosi adeguate di chinina esercitano un'azione sui parassiti malarici durante l'incubazione.

La prima serie di indagini è stata affidata al mio collaboratore Dr. Jose de Sant'Ana Queiroz, mentre la seconda veniva eseguita da me stesso.

METODO E MATERIALE D'INDAGINE.

Le ricerche che descrivo furono eseguite su canarini infettati col *Plasmodium praecox (relictum)*, che — come è noto — è assai resistente alla chinina.

Il trattamento fu eseguito per due giorni consecutivi, mediante 2 milligr. di cloridrato di chinina in soluzione acquosa, introdotta direttamente nello stomaco con una piccola sonda costituita da un sottile catetere uretrale innestato in una siringa di vetro, come raccomanda Roehl.

Lourie⁽⁵⁾, somministrando ai canarini quotidianamente milligr. 2 di cloridrato di chinina per iniezione intraperitoneale osservò una cospicua mortalità nelle prime due settimane (68,8 %), Sargent⁽⁶⁾ asserisce che la dose mortale di chinina nei canarini è assai variabile come per l'uomo. Secondo l'A. i canarini del peso medio di gr. 20 possono tollerare dosi elevate, cioè dosi quotidiane di milligr. 0,7 per iniezione sottocutanea per più settimane, corrispondenti per l'uomo di 65 Kg. di peso, a gr. 2,25 di chinina; oppure milligr. 2 per più giorni di seguito, corrispondenti a gr. 6,5 per l'uomo. Una dose unica *pro die* di milligr. 2 per iniezione può essere mortale per i canarini, ma frazionando questa dose il canarino resiste.

Di regola ricorrendo a iniezioni di soluzione di chinina sotto la cute degli uccelli o nei muscoli pettorali, si manifestano ben presto fenomeni tossici per cui occorre impiegare dosi assai piccole per non uccidere l'animale, oppure dosi maggiori somministrate frazionatamente come consiglia Sargent.

Ma — come osserva Roehl — impiegando tenui dosi può facilmente sfuggire l'azione antiparassitaria del prodotto e, d'altro canto, non è sempre possibile l'impiego di ripetute iniezioni endomuscolari per frazionare la dose quotidiana, trattandosi di soluzioni di alcaloidi che determinano localmente notevoli fatti infiammatori.

Perciò ricorsi alla somministrazione delle soluzioni di cloridrato di chinina per via gastrica portando direttamente la soluzione nello stomaco, ciò che permette una maggiore tollerabilità del medicamento ed una esattezza sufficiente da consentire un'approssimativa determinazione dell'azione del medicamento.

Considerando che 1 cmc. di una soluzione di cloridrato di chinina al 1:200 è ancora tollerata dai canarini somministrata per via gastrica, e che 1 cmc. di una soluzione di chinina all'1:800 è ancora efficace, io ho introdotto per via gastrica cmc. 0,5 di una soluzione all'1:250, cioè 2 milligr. di chinina cloridrato.

Ho dovuto lamentare nei primi 15 giorni una notevole mortalità fra i canarini non dipendente dallo sviluppo del *P. praecox (relictum)*, inoculato, ma non posso asserire con sicurezza che la chinina somministrata sia stata la causa della morte dei canarini.

Come è noto, Roehl misurava l'efficacia di un medicamento antimalarico osservando se la quantità di medicamento somministrato per 6 giorni consecutivi dal momento dell'infezione, conduceva ad un evidente ritardo nella comparsa dei pa-

rassiti nel sangue. Nel caso nostro, invece, siccome si trattava di studiare l'azione di due dosi consecutive di chinina, somministrate in vari periodi dell'incubazione prendemmo in considerazione sopra tutto il numero dei parassiti presenti nel sangue periferico ed il decorso dell'infezione.

Era, difatti, presumibile che l'azione di due dosi di chinina somministrate durante l'incubazione potessero rallentare la progressione numerica dei parassiti, in modo che l'organismo potesse raggiungere un sufficiente grado di immunità prima che il parassita raggiungesse un tal numero da uccidere l'ospite.

Abbiamo poi considerato che l'incubazione è più lunga nei canarini inoculati con sporozoitii, che in quelli inoculati con sangue infetto prelevato da altri canarini; infatti nel primo caso, ricercando in preparati a fresco di sangue, non si riesce a svelare i parassiti che dopo 6-7 giorni dopo l'inoculazione, mentre invece nei canarini inoculati con sangue infetto appaiono i parassiti già dopo 3-4 giorni; perciò le nostre indagini furono compiute in due serie di canarini, di cui una fu inocolata con sporozoitii e l'altra con sangue infetto.

Siccome il periodo di incubazione è in rapporto — entro certi limiti — col numero dei parassiti inoculati, così i canarini vennero inoculati — per quanto è consentito in simili esperimenti — con uno numero uguale di parassiti.

Vennero inoculati 36 canarini con emulsione di ghiandole salivari ricche di sporozoitii, in modo che cmc. 0,1 di emulsione possono contenere gli sporozoitii di due ghiandole salivari. Altri 36 canarini vennero inoculati col sangue di due canarini infetti diluito con 15 cmc. di soluzione fisiologica sterile, di cui veniva iniettato cmc. 0,3 nei muscoli pettorali.

Volendo studiare l'azione della chinina nei vari periodi dell'incubazione, venne somministrato a cinque gruppi di 6 canarini ciascuno, 2 milligr. di chinina per due giorni consecutivi in vari periodi dell'incubazione, così il primo gruppo ricevette la chinina lo stesso giorno dell'inoculazione ed il giorno successivo; il 2° gruppo ricevette la chinina il terzo ed il quarto giorno dopo l'inoculazione; il 3° gruppo ricevette la chinina il quinto ed il sesto giorno; il 4° gruppo ricevette la chinina il settimo ed ottavo giorno, e l'ultimo gruppo ricevette la stessa dose giornaliera di 2 milligr. di chinina il nono e decimo giorno dopo l'inoculazione. Un gruppo di sei canarini, ugualmente inoculati, veniva tenuto per controllo senza subire alcun trattamento con chinina.

RISULTATI DELL'ESPERIMENTO.

I risultati conseguiti sono riassunti nelle tabelle A e B qui riportate. Come è stato detto si è verificata la mortalità di numerosi canarini, in-

dipendentemente dallo sviluppo dell'infezione, spesso a distanza di 15 giorni dalla somministrazione della chinina, per cui esito a ritenere che la mortalità sia dovuta alla somministrazione del medicamento. Malgrado che la mortalità dei canarini abbia disturbato l'esperimento, tuttavia si possono trarre da queste indagini conclusioni interessanti.

Osservando la tabella A, che riassume i risultati del trattamento con la chinina nei canarini inoculati con sporozoitii di *P. praecox (relictum)*, si osserva che i controlli morirono tutti entro quattro settimane a cagione dell'infezione contratta, come si può rilevare dal cospicuo numero di parassiti presenti nel sangue periferico. Invece nel primo gruppo, che fu trattato con chinina lo stesso giorno dell'inoculazione ed il giorno successivo, due canarini non contrassero l'infezione e tre raggiunsero, dopo quattro settimane, un sufficiente grado di immunità. Nel secondo gruppo un canarino moriva gravemente infetto. Nel terzo gruppo — malgrado che la mortalità dei canarini abbia turbato l'esperimento — si può dedurre che uno solo moriva con numerosi parassiti nel sangue periferico. Nei gruppi quarto e quinto l'infezione non si manifestò, oppure regredì dopo un breve periodo di presenza di parassiti nel sangue.

Si può pertanto concludere che due dosi di chinina di milligr. 2, somministrate in giorni consecutivi in vari periodi dall'incubazione, avevano un'azione manifesta sui parassiti che raramente raggiunsero il numero sufficiente per determinare la morte del canarino.

In questo esperimento l'azione della chinina sui parassiti non mostra sensibili differenze, sia che venga somministrata il primo ed il secondo giorno dopo l'inoculazione od il nono ed il decimo giorno. Dobbiamo però rilevare che in questo gruppo di canarini inoculati con sporozoitii, l'incubazione è notevolmente più lunga, per cui nel nono e decimo giorno dopo l'inoculazione, si osservano ancora scarsi parassiti nel sangue periferico.

Differente è l'azione di milligr. 2 di cloridrato di chinina somministrata per due giorni consecutivi ai canarini inoculati con sangue infetto (Tabella B).

Dei canarini tenuti per controllo, senza alcun trattamento, uno non contrasse l'infezione, uno raggiunse un sufficiente grado di immunità dopo 4 settimane, e quattro canarini morivano a cagione del cospicuo sviluppo parassitario.

cagione dello sviluppo dei parassiti inoculati; nel quarto e nel quinto gruppo, invece, l'infezione condusse a morte due canarini per ciascun gruppo.

TABELLA B.

CANARINI INOCULATI CON SANGUE INFETTO IL 14 APRILE
NUMERO DEI PARASSITI RIFERITO A 1000 GLOBULI ROSSI

CAN N°	A P R I L E												M A G G I O																
	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
19	C	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+										
19A	C	C	-	-	-	+	8	7	6	+																			
20	C	C	-	-	-	-	-	9	10	+										45	50	+							
20A	C	C	-	+	2	10	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21	C	C	-	-	3	16	+	-	-	7	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
21.A	C	C	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
22			+																										
22.A		C	C+	5	15	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
23		C	C+	8	3	+	-	-	-	3	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+								
23.A		C	C	+	3	8	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24			+																										
24.A		C	C+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25			-	C	C	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25.A			-	C	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26			-	C	C ₅	-	-	2	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
26.A			-	C	C ₄	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27			+	C	C+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
27.A			-	C	C	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
28			+	+	C	+																							
28.A			-	13	C	C ₅	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+								
29			-	-	C	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
29.A			-	31	C	C ₃₀	4	*	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30			+	13	C	C ₂₉	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	47	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30.A			-	5	C	C+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
31			+	7	8	C	C ₃	-	+	8	6	3	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
31.A			-	55	47	C	C ₉	4	16	26	77	+																	
32			-	41	27	C	C ₃₃	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
32.A			+	+	5	C	C+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33			-	-	-	C	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
33.A			-	22	17	C	C+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
34			7	38	4	9	+	17	30	4	4	34	337	+															
34.A			-	6	34	34	+																						
35			-	10	28	20	7	5	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
35.A			-	13	29	16	13	21	28	113	196	+																	
36			-	-	-	+	+	+	20	21	+																		
36.A			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

C = SOMMINISTRAZIONE DI 2MMG DI CHININA + = MENO DI 2 PARASSITI PER 1000 GLOBULI ROSSI
 - = ASSENZA DI PARASSITI * = NON ESEGUITA LA RICERCA + = MORTO

fatta sempre su preparati colorati per evitare che negli esami a fresco potesse sfuggire l'osservazione di qualche parassita nei primi stadi di sviluppo scarsamente pigmentato, come indubbiamente avvenne nella prima serie di canarini inoculati con sporozoit.

Analizzando ora la tabella C, noi siamo indotti a concludere che la chinina esplica la sua azione parassitocida anche quando venga somministrata il giorno stesso della inoculazione degli sporozoit. Difatti, mentre dei sei canarini tenuti per controllo, quattro morirono per lo sviluppo dei parassiti inoculati, fra quelli trattati con chinina uno morì in seguito all'infezione contratta.

Si osservi inoltre che nei sei canarini tenuti per controllo, l'incubazione si protrasse per 9 giorni, mentre nei canarini inoculati l'incubazione si prolungò per 9 giorni in tre canarini, per 11 giorni in un canarino e per 13 giorni in un altro canarino.

Si deve ancora tener conto che mentre nei canarini trattati con chinina non si osservarono più di 2 parassiti per 1000 globuli rossi al nono giorno dall'inoculazione, invece fra quelli non trattati con chinina si potevano contare in un canarino fino ad 81 parassiti per 1000 globuli rossi.

CONCLUSIONE.

Nei canarini infettati con sporozoit di *P. praecox (relictum)*, la chinina introdotta per via gastrica, nella dose di 2 milligr. per due giorni consecutivi, manifesta una efficace azione parassitocida nei primi 10 giorni dalla inoculazione. Invece nei canarini inoculati con sangue infetto di *P. praecox (relictum)* l'incubazione è più breve e l'azione parassitocida della chinina può proteggere una percentuale maggiore di canarini nei primi 6 giorni consecutivi all'inoculazione, che non nei quattro giorni successivi.

La chinina somministrata sotto forma di cloridrato alla dose di milligr. 2 per via gastrica immediatamente dopo l'inoculazione con sporozoit ha protetto 4 canarini su 5 risultati infetti, mentre nei canarini tenuti per controllo senza trattamento, ne morirono 4 su 6 risultati infetti.

Quando i canarini presentano nel sangue periferico un numero cospicuo di parassiti, la somministrazione di due dosi di chinina non sempre evita la morte.

L'azione della chinina è più manifesta quando viene somministrata durante l'incubazione di quando viene somministrata dopo la comparsa di numerosi parassiti nel sangue periferico.

La somministrazione di due dosi di chinina in qualunque periodo dell'incubazione, non prolunga sempre il periodo dell'incubazione, ma riduce il numero dei parassiti nel sangue periferico in confronto a quello dei canarini tenuti senza trattamento.

In tal modo i canarini trattati riescono a raggiungere un sufficiente grado di immunità, prima che i parassiti possano raggiungere un numero sufficiente per uccidere l'ospite.

Da quanto ho riferito si può dedurre che la chinina esplica la sua azione parassitocida indipendentemente dallo stato immunitario dell'organismo e che una cura pronta costituisce ancora un requisito necessario di un trattamento efficace.

RIASSUNTO

Si dimostra che i sali di chinina somministrati per via gastrica ai canarini infetti con *P. praecox relictum* nei primi due giorni consecutivi di inoculazione esplica la sua azione parassitocida indipendentemente dallo stato immunitario acquisito dall'organismo.

Si deduce da ciò che la chinina agisce sui parassiti malarici anche durante il periodo di incubazione e che una cura pronta costituisce sempre il requisito necessario di un trattamento efficace.

SUMMARIUM

Auctor contendit ac probat, sales cinchoniacos, si canariensibus fringillis, *Plasmodio praecoci* infectis, primo et altero die post inoculatum germen adhibeantur, parasitos interimere, idque praeter quam quod corpora immunia facta sint.

Inde efficitur cinchoniacos sales adversus parasitos malariae, incubante quoque morbo plurimum valere, atque ideo curatione utendum esse quam celerrima, si quidem volumus eam esse efficacem.

BIBLIOGRAFIA

- (¹) YORKE W. e MACFIE J. W., Bull. Roy. Soc. of Trop. Med. and Hyg. [3], 18 (1924).
- (²) Quart. Bull. Health Organ. League of Nations [2], 11 (1933).
- (³) GOLGI C., « Gli studi di Camillo Golgi sulla malaria raccolti ed ordinati dal Prof. Aldo Perroncito », Ediz. L. Pozzi (1929).
- (⁴) Quart. Bull. Health Organ. League of Nations [2], 11 (1933).
- (⁵) LOURIE E. M., Ann. Trop. Med. and Parasitol. [2], 28 (1934).
- (⁶) SERGENT ED., Ann. de l'Inst. Pasteur de Paris, 35 (1921).
-
-
-