

Mic B 74/83.

CLINICA DELLE MALATTIE TROPICALI E SUBTROPICALI DELLA R. UNIVERSITÀ DI ROMA
Direttore: Prof. Sen. A. CASTELLANI DI GHISIMAIÒ

BIAGIO URSO

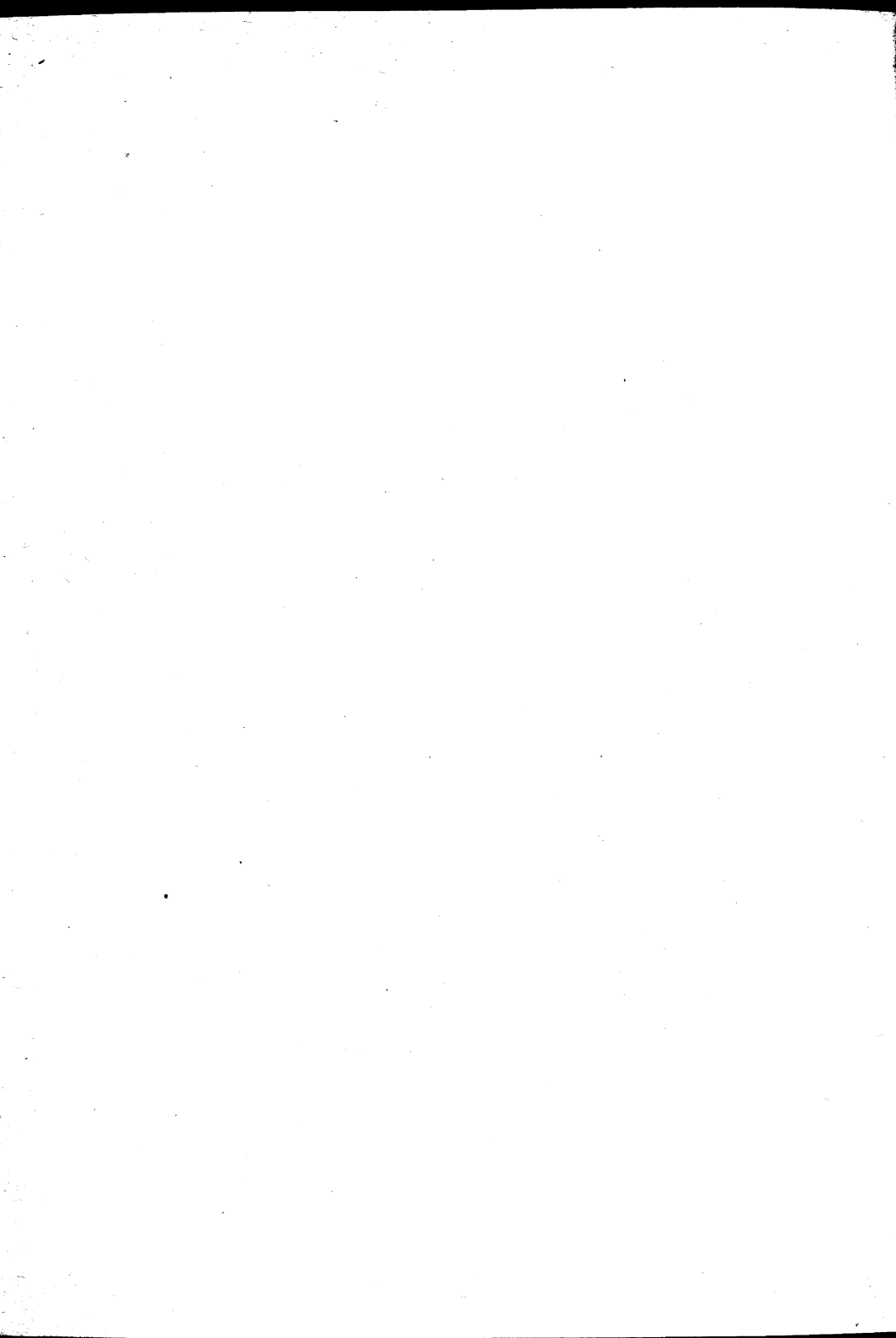
**AZIONE DEI SOLFAMIDO-TIAZOLICI
NELLA CASTELLANOSI SPERIMENTALE**

« Estratto dall' » Archivio Italiano di Scienze Mediche Coloniali e di Paramitol. »
Vol. XXII (VII della Nuova Serie) - 1941-XIX



« EDIZIONI UNIVERSITARIE »

VIA V. VENETO N. 34-B - ROMA



Azione dei solfamido-tiazolic nella Castellanos sperimentale

BIAGIO URSO - Assistente ordinario

È noto che i solfamidici sono senza dubbio i medicamenti che hanno suscitato un grande movimento scientifico nei nostri tempi. Essi, nella pratica terapeutica di talune malattie, hanno realmente apportato dei vantaggi con dei successi indiscutibili.

Riguardo al modo d'azione vi sono diverse teorie: secondo alcuni parrebbe che l'azione dei solfamidici si esplicherebbe con un aumento dei poteri di difesa immunitaria dell'organismo, secondo altri: un'azione diretta del medicamento sull'agente patogeno che verrebbe vinto attraverso un processo di batteriolisi, di impedimento cioè della normale riproduzione, o attraverso un processo di lisi della capsula che lo renderebbe facile preda dei normali processi difensivi, o mediante la neutralizzazione delle tossine.

P. SCANGA, in un recentissimo lavoro sul meccanismo d'azione della solfanil-a-aminopiridina, esclude però la presunta azione di blocco dei solfamidici sulla capsulogenesi.

Della complessa molecola dei primi preparati coloranti, fu presto trovato che il nucleo veramente attivo era la para-amino-fenil-solfamide, così che tutta la produzione farmaceutica mondiale si orientò in questo senso.

Su questo nucleo poi sono state tentate da parte di numerosi chimici infinite modificazioni quali l'introduzione di un gruppo solfonico, benzolico, ecc. che però la critica obiettiva non giudicò apportatori di alcun perfezionamento sia per la tolleranza che per l'intensità d'azione. Legando due dei gruppi solfamidici si sono ottenute le disolfamidi, ottime nella terapia delle infezioni gonococciche.

Un'altra combinazione che ha apportato dei veri vantaggi nella chemioterapia della polmonite e nella meningite cerebrospinale epidemica, è l'unione della para-amino-fenil-solfamide

alla piridina; tale prodotto per l'alta attività e la minima tossicità si è dimostrato veramente superiore agli altri solfamidici nel trattamento di talune affezioni.

Il più moderno dei solfamidici è il par-amino-fenil-solfamide-metiltiazolo. Esso risulta dalla combinazione del para-amino-fenil-solfamide con una molecola di metil-tiazolo. È simile alla solfamida-piridina della quale conserva le note attività terapeutiche.

È degno di nota osservare come il gruppo tiazolico costituisca parte della molecola della vitamina B1, la quale risulta, appunto costituita dall'associazione di un gruppo tiazolico con un gruppo pirimidinico.

Come risulta dalle esperienze sugli animali di VAN DYKE, GREEP, RAKE, MC KEE, ecc., il medicamento ingerito viene eliminato nella quasi totalità colle urine delle 24 ore. Il preparato risulta scarsamente tossico, così che è ben tollerato.

VAN DYKE, GREEP, RAKE ed altri hanno stabilito, a seguito di prove sperimentali sugli animali, che la tossicità del derivato tiazolico della solfamida, rappresenta appena il 65 % di quella del derivato piridinico.

LONG, HAVILAND ed EDWARDS trovarono che la solfamida-tiazolo è tollerata dall'animale in quantità circa doppia della solfamidopiridina. Scorrendo la letteratura esistente riguardo l'azione della solfamida nella Castellanosi sperimentale, abbiamo potuto trovare soltanto due lavori.

VANDEN BRANDEN alla fine del 1938 sperimentò la terapia solfamidica su dei ratti bianchi infetti di Castellanella brucei. L'Autore somministrò a mezzo di una sonda crgt. 10 di Astreptine Meurice (para-amino-fenol-sulfamide) a ratti bianchi del peso di gr. 100 ciascuno, infetti di Castellanella brucei. Le Castellanelle non scomparivano dalla circolazione periferica sanguigna dopo tre giorni di somministrazione del medicamento e gli animali morivano dopo qualche giorno.

Tre altri ratti bianchi del peso di gr. 100-120 ciascuno, ricevevano a mangiare del cibo cosparso di gr. 0,30 di Astreptine Meurice. Le Castellanelle persistevano nella circolazione sanguigna periferica. Tali esperienze ripetute più volte hanno dato identici risultati, per cui l'Autore ha concluso che la solfanilamide non ha mostrato alcuna azione parassitica sulla Castellanella brucei verso i ratti bianchi infettati sperimentalmente.

KOLMER JOHN A. e RULE, nel 1939 studiarono il trattamento della Castellanosì sperimentale dei ratti colla sulfanilamide. Gli Autori conclusero che la sulfanilamide sia per via intravenosa che orale è inefficace nella cura dei ratti infetti da *Trypanosoma equiperdum*.

Abbiamo creduto utile praticare delle ricerche analoghe adoperando invece i derivati tiazolici, che allo stato attuale delle nostre conoscenze, rappresentano i più attivi e tollerati dei preparati sulfamidici.

Ricordiamo anzitutto le ragioni per cui nel nostro lavoro seguiamo la nomenclatura secondo la classifica proposta da JACONO.

Partendo da considerazioni soprattutto biologiche, CHALMERS nel 1918 propose una nuova classifica dei Trypanosomi, ammettendo vari genere (*Trypanosoma*, *Cystotrypanosoma*, *Lewisonella*, *Schizotrypanosoma*, ecc.) e differenziando nettamente il genere *Trypanosoma* dagli altri.

JACONO riprendendo lo studio dello Chalmers ha differenziato il genere *Trypanosoma* in due generi: 1º genere *Trypanosoma* GRUBY 1843 e 2º genere *Castellanella*, CHALMERS 1918, *emendavit* JACONO 1935.

1º genere *Trypanosoma* GRUBY 1843, emoflagellati della famiglia Trypanosomidae e costituiti nelle forme adulte da elementi ovalari e globosi (il diametro trasversale è poco più breve del diametro longitudinale) con protoplasma a struttura fibrillare, con nucleo centrale, piccolo rispetto ai diametri del parassita, a cromatina diffusa, senza mai vacuoli, e caratterizzati principalmente dalla situazione del citonucleo immediatamente vicino al nucleo.

2º genere *Castellanella* CHALMERS 1918, *emendavit* JACONO 1935; emoflagellati della famiglia Trypanosomida e, costituiti nelle forme adulte da elementi generalmente allungati (il diametro longitudinale è considerevolmente maggiore di quello trasversale) con protoplasma granuloso e omogeneo con nucleo granuloso grande rispetto ai diametri del parassita, centrale o spostato verso l'estremità aflagellata, e caratterizzato principalmente dalla situazione del citonucleo verso l'estremità aflagellata.

RICERCHE PERSONALI.

Per le nostre ricerche abbiamo adoperato un ceppo di Castellanela equiperda da tempo conservato nella nostra Clinica a mezzo di ripetuti passaggi su animali. Come animali da esperimento abbiamo scelto la cavia, la quale come è noto è molto recettiva per la Castellanosì, ed in cui l'infezione si manifesta in media 4-8 giorni dopo l'inoculazione eseguita per via endoperitoneale, ed il ratto bianco, anch'esso molto recettivo.

Le cavie da noi inoculate sono state in numero di 18, delle quali 9 servirono come controlli, mentre le altre 9 vennero trattate.

Abbiamo adoperato la tecnica comunemente eseguita nella Castellanosì sperimentale e cioè: da una cavia precedentemente infetta di Castellanela equiperda, abbiamo prelevato direttamente dal cuore cc. 0,20 di sangue ed abbiamo inoculato per via endoperitoneale i nostri animali da esperimento, controllando fin dal giorno successivo e per tutti i seguenti, con l'esame microscopico di una goccia di sangue a fresco, prelevata dall'orecchio, la comparsa e l'eventuale aumento numerico delle Castellanelle. Il trattamento degli animali col para-amino-fenil-sulfamide-metil-tiazolo è stato iniziato in seconda o terza giornata dall'inoculazione, nel giorno cioè in cui era possibile osservare all'esame del sangue degli animali infetti almeno due o tre Castellanelle per campo microscopico. Nelle tabelle seguenti sono raccolti i dati principali degli esperimenti.

Come risulta dalla tabella I il trattamento è stato eseguito variando la dose del medicamento con il seguente criterio:

In un primo gruppo di animali il trattamento è stato fatto somministrando alte dosi di solfamidetiazolo (gr. 0,50 al giorno) pari a gr. 0,10 per ogni 100 gr. di peso dell'animale. Gli animali sono morti in terza giornata dall'inoculazione e le Castellanelle sia nelle cavie trattate che in quelle tenute come controllo, sono aumentate progressivamente di numero sino a divenire numerosissime per campo microscopico nel giorno stesso della morte degli animali.

In un secondo gruppo di animali il trattamento è stato eseguito a piccole dosi, 4-5 ctgr. *pro die* per iniezioni endomu-

scolari, pari ad 1 ctgr. per ogni 100 gr. di peso dell'animale; gli animali sono morti in genere in 5^a-6^a giornata dall'inoculazione (soltanto in un caso in 13^a giornata). Le Castellanelle sono andate aumentando ogni giorno fino a divenire molto numerose per campo microscopico nel giorno stesso della morte dell'animale.

In un terzo gruppo di cavie è stato eseguito il trattamento per os, sia ad alte dosi (gr. 0,60 pro dose) sia a dosi medie (gr. 0,10). Il trattamento per bocca veniva fatto impastando il para-amino-benzol-sulfamide-metil-tiazolo finemente tritato con della mollica di pane, e facendone delle pillole che l'animale sotto il nostro controllo, consumava per intero, senza lasciare alcun residuo. Sia le cavie trattate con alte dosi che quelle con piccole dosi, morivano di Castellanosì in 4^a o 5^a giornata dall'inoculazione come i controlli.

Abbiamo poi voluto ripetere tali esperienze sui ratti bianchi del peso di gr. 100-120 ciascuno (vedi tabella II). Il trattamento è stato fatto analogamente per iniezioni in seconda giornata dall'inoculazione alla dose di 2 ctgr. al giorno. Gli animali sono morti presso a poco contemporaneamente ai controlli in 4^a o 5^a giornata dall'inoculazione e l'aumento delle Castellanelle, controllate tutti i giorni con l'esame microscopico di una goccia di sangue prelevata dall'orecchio, è stato sempre progressivo in tutti gli animali raggiungendo il massimo nel giorno della morte.

Abbiamo voluto successivamente sperimentare l'azione in vitro della solfamida-tiazolo sulle Castellanelle.

È noto che adoperando nell'uomo in media tre grammi al giorno di sostanza somministrata in dosi refratte, si ottiene una concentrazione del preparato nel sangue e negli altri liquidi organici su un livello di 0,04-0,06 grammi per cento e che costituisce l'*optimum* per un buon effetto terapeutico.

Tenendo presenti questi dati abbiamo mescolato nelle provette contenenti sangue di cavia citratato ed infetto di Castellanelle, una quantità di sostanza tale da ottenere la concentrazione voluta di gr. 0,06 per cento, in pratica, 1,5 ctgr. di medicamento su 25 cc. di sangue infetto; furono istituiti dei controlli cioè provette contenenti il sangue citratato con Castellanelle ma esenti da medicamento. Di tali provette alcune erano tenute a temperatura ambiente, altre in ghiacciaia, altre ancora in termostato; in varie unità di tempo si prelevava una

goccia di sangue da ciascuna provetta con una pipetta Pasteur e posta tra un vetrino porta-oggetti ed un copri-oggetti era osservata al microscopio. Le Castellanelle da principio mobilissime divenivano poco mobili dopo 15 minuti, scarsamente mobili dopo 30 minuti e del tutto immobili o quasi dopo un'ora.

I risultati sono indicati nella tabella III, dalla quale è facile rilevare che la solfamido-tiazolo non ha avuto alcuna azione parassitica neppure in vitro.

CONCLUSIONI

Dal complesso delle nostre ricerche possiamo trarre le seguenti conclusioni:

Nonostante le dosi di solfamido-tiazolo siano state varie sia per bocca che per iniezioni endomuscolari tanto nelle cavie che nei ratti bianchi e la somministrazione del medicamento sia stata precoce, come risulta dalle tabelle annesse, il trattamento si è dimostrato completamente inefficace: 1° poichè nessun animale trattato è sopravvissuto all'infezione; 2° poichè non vi è stata nessuna modificazione durante il decorso della malattia; 3° poichè il decesso degli animali trattati è avvenuto presso a poco alla stessa epoca degli animali non trattati istituiti come controlli.

Stando poi alle osservazioni in vitro, dobbiamo concludere che la solfamido-tiazolo non ha dimostrato alcuna azione parassitica.

Ne viene di conseguenza che i solfamido-tiazolici, pur essendo i più attivi e i più tollerabili dei preparati del genere fino ad oggi conosciuti, non hanno alcuna azione efficace contro la Castellania e quindi non possono impiegarsi utilmente nella Castellanosia umana.

BIBLIOGRAFIA

- F. SCANGA - Ricerche sistematiche sul meccanismo di azione della solfanil-a-amino-piridina. « Annali d'Igiene » 1941. N. 1.
 CASTELLANI e JACONO - Manuale di Clinica Tropicale.
 JACONO I. (1934) - Osservazioni sui Trypanosomi e proposta di una nuova classifica. « Annali Med. Nav. e Colon. » 41. Vol. 1-18.
 VAN LEN BRANDEN - Attempts at sulfanilamide therapy. « Ann. Soc. Belge de Med. Trop. » Dicembre 1938.
 KOLMER, JOHN e RULE - Sulfanilamide in the treatment of experimental Trypanosomiasis of rats. « Proc. Soc. Exp. Biol. e Med. », Gennaio 1939. Vol. 40. N. 1.

TABELLA I.

N° d'ordine	Peso	Giorno d'inizio del trattamento (dall'inoculazione)	Quantità di solfamide-tiazolo (pro dose)	Quantità di solfamide-tiazolo (totale somministrata)	Giorno della morte (dal giorno dell'inoculazione)	Osservazioni
Cavia n. 1	gr. 500	II	0,50	0,50	III	Trattata per iniez. intramuscolari
" 2	" 505	controllo	—	—	IV	—
" 3	" 520	III	0,05	0,15	V	Trattata per iniez. endomuscolari
" 4	" 540	controllo	—	—	V	—
" 5	" 415	II	0,04	0,48	XIII	Trattata per iniez. endomuscolari
" 6	" 395	controllo	—	—	V	—
" 7	" 350	III	0,04	0,20	VIII	Trattata per iniez. endomuscolari
" 8	" 350	controllo	—	—	VIII	—
" 9	" 565	III	0,05	0,15	VI	Trattata per iniez. endomuscolari
" 10	" 535	controllo	—	—	VII	—
" 11	" 560	III	0,60	1,20	V	Trattata per os
" 12	" 520	controllo	—	—	V	—
" 13	" 380	II	0,40	1,20	IV	Trattata per os
" 14	" 350	controllo	—	—	V	—
" 15	" 450	III	0,20	0,60	VI	Trattata per os
" 16	" 400	controllo	—	—	V	—
" 17	" 420	III	0,20	0,40	V	Trattata per os
" 18	" 435	controllo	—	—	VI	—

TABELLA II.

N° d'ordine	P e s o	Giorno d'inizio del trattamento (dall'inoculazione)	Quantità di solfamide-tiazolo (pro dose)	Quantità di solfamide-tiazolo (totale somministrato)	Giorno della morte (dal giorno dell'inoculazione)	<i>Osservazioni</i>
Ratto n. 1	gr. 120	II	0,10	0,30	IV	trattato per os
» 2	» 120	controllo	—	—	III	controllo
» 3	» 100	II	0,10	0,30	IV	trattato per os
» 4	» 110	controllo	—	—	IV	controllo
» 5	» 120	II	0,02	0,08	V	trattato per iniezioni
» 6	» 110	controllo	—	—	V	controllo
» 7	» 100	II	0,02	0,08	V	trattato per iniezioni
» 8	» 100	controllo	—	—	V	controllo
» 9	» 100	II	0,02	0,08	VI	trattato per iniezioni
» 10	» 100	controllo	—	—	VI	controllo
» 11	» 120	II	0,10	0,40	VI	trattato per os
» 12	» 120	controllo	—	—	V	controllo

TABELLA III.

PROVETTE IN ESAME	Ambiente	Dopo 5 minuti	Dopo 15 minuti	Dopo 30 minuti	Dopo 1 ora
Provetta 1.	a temp. ambiente	mobili	poco mobili	pochissimo mobili	quasi immobili
Provetta 2 (controllo)	a temp. ambiente	mobili	poco mobili	pochissimo mobili	quasi immobili
Provetta 3.	in termostato	mobili	poco mobili	pochissimo mobili	pochissimo mobili
Provetta 4 (controllo)	in termostato	mobili	poco mobili	pochissimo mobili	pochissimo mobili
Provetta 5.	in ghiacciaia	mobili	poco mobili	scarsamente mobili	quasi immobili
Provetta 6 (controllo)	in ghiacciaia	mobili	poco mobili	scarsamente mobili	quasi immobili

