

52

Mar 1375 / 5
37.

Dott. PERICLE POZZILLI

LA PROTEINOTERAPIA ASPECIFICA

con estratti di timo

Estratto dalla "Rassegna di Clinica, Terapia e Scienze Affini,"

Anno XXVIII - Fasc. II - Marzo-Aprile 1929

— 1929 —

ISTITUTO NAZIONALE MEDICO FARMACOLOGICO "SERONO,"

SEDE CENTRALE: ROMA (139) - Via Casilina, 125

Dott. PERICLE POZZILLI

LA PROTEINOTERAPIA ASPECIFICA

con estratti di timo

Estratto dalla "Rassegna di Clinica, Terapia e Scienze Affini",

Anno XXVIII - Fasc. II - Marzo-Aprile 1929

— 1929 —

ISTITUTO NAZIONALE MEDICO FARMACOLOGICO "SERONO",

SEDE CENTRALE: ROMA (139) - Via Casilina, 125

La proteino-terapia aspecifica con estratti di timo

(Studio sperimentale e clinico)

Prof. Dott. PERICLE POZZILLI

Docente di patologia speciale Medica nella R. Università di Roma

Per comprendere ed applicare razionalmente la terapia delle malattie infettive in generale, occorre tener presente come agisce l'elemento morbigeno. Le malattie d'infezione sono provocate da microrganismi, che appartengono ai gradini più bassi della scala degli esseri e che formano un ponte di passaggio tra gli animali e le piante, sicchè per molti di essi non è ancora stabilita la vera natura.

Come ho fatto rilevare in un'altro mio lavoro. (Azione dei leucociti sul destino dei microbi infettivi nell'organismo vivente. Rivista Osped., 1916), è generalmente ritenuto che i batteri, ove non vengano immessi direttamente nel sangue ma penetrino per qualsiasi altra porta d'entrata nell'organismo, percorrono in un primo tempo le vie linfatiche degli spazi linfatici interstiziali dei tessuti ai tronchi maggiori, e vengono da ultimo versati nel torrente sanguigno, che diviene allora la via di disseminazione dei medesimi anche negli organi più lontani.

I microbi patogeni, una volta penetrati nell'organismo umano, iniziano contro di esso la loro azione deleteria: succede cioè la lotta tra l'elemento infettante invasore e l'ambiente cellulare che lo ha ospitato. Solo nei soggetti dotati di immunità perfetta, originaria od acquisita, generale o speciale (cioè per dati elementi patogeni), la vittoria da parte dell'organismo è pronta e sicura; negli altri si genera la malattia, ed essa può guarire o non, a seconda di svariate condizioni intrinseche od estrinseche, favorevoli o sfavorevoli.

Da ciò sgorga un primo postulato per la prevenzione e per la cura generale delle malattie d'infezione.

Noi non possiamo seguire, per i limiti imposti a questo lavoro, i microbi patogeni, penetrati nell'organismo; a noi qui interessa soprattutto determinare quale sia il loro ulteriore destino, e cioè la via che battono dal sangue fino agli organi e come sia possibile aggredirli, o porre l'organismo in condizioni di difesa verso di essi.

Noi sappiamo che in ordine alle ricerche di numerosi autori, il siero normale è fornito di potere battericida, talora molto rilevante: il Buchner dava a questo principio attivo il nome di alessina. Noi condusse naturalmente ad esplorare se la resistenza acquistata con la vaccinazione fosse anch'essa collegata a tale potere. Più tardi si poté dimostrare che l'organismo è capace di reagire con la produzione di principi ad azione battericida. Nasceva così la sieroterapia; la scoperta di questa colmava quanto di più vivo era nell'attesa degli studi immunitari, poichè dal lato scientifico metteva in luce il meccanismo con cui operava la vaccinazione, promuovendo cioè nel siero di sangue la for-

inazione di sostanze antagonistiche al materiale infettivo, dal lato terapeutico forniva nel trattamento delle infezioni il mezzo vero di cura che finora mancava.

Seguendo ad analizzare particolarmente il potere del sangue in rapporto alla resistenza all'infezione, si trovò negli animali naturalmente immuni che tale potere, quanto all'azione battericida, non coincideva, anzi era talora in contrasto con le resistenze mostrate dall'animale; e quanto all'azione antitossica la resistenza naturale non trovava nessun appoggio nelle proprietà neutralizzanti del siero. Negli stessi animali artificialmente immunizzati cominciavano ad affacciarsi osservazioni che accennavano come la resistenza acquisita potesse persistere più a lungo, quando ogni potere del sangue appariva dileguato.

Venne così, accanto alla immunità umorale, delineandosi una seconda forma, dove la difesa è affidata agli elementi cellulari: la immunità istogena.

Alla creazione scientifica di questa immunità contribuirono: il Metshnikoff, con la fondazione della teoria fagocitaria, per cui il materiale infettivo viene preso e rapidamente distrutto entro le cellule leucocitarie; il Centanni, che nello studio sulla immunizzazione specifica degli elementi dei tessuti dimostrò come la resistenza poteva essere basata sulla perdita della capacità fissativa degli elementi sensibili; l'Ehrlich, che portando a grande sviluppo il metodo delle analisi in vitro, ridusse alla maggiore evidenza la capacità delle cellule di saper sopportare impunemente il contatto di veleni anche dei più potenti.

Per la teoria di Metschnikoff, è ormai fuor di dubbio che i batteri, comunque penetrati nell'organismo, e tanto più se immessi direttamente nel sangue, non restano a lungo liberi; ma quali elementi eterogenei, vengono subitamente presi dai fagociti ed inghiottiti: per tal modo sottratti a qualsiasi azione antibatterica dei succhi del corpo.

L'emigrazione dei globuli bianchi fuori del circolo non è più oggi considerata soltanto un fenomeno patologico; ma si sa che i leucociti migrano anche in condizioni fisiologiche attraverso tutti i vasi dell'organismo e attraverso le membrane organiche, le sierose e le mucose, e che i leucociti i quali hanno inghiottito sostanze eterogenee inerti, emigrano, a preferenza dei leucociti vuoti, abbandonando il circolo in condizioni perfettamente normali (Siebel).

Il pronto allontanamento dei microbi dal sangue però è da ritenere come parte essenziale del compito dei leucociti; l'accertare quindi sperimentalmente il fatto che i leucociti sono in grado di trasportare da un luogo all'altro attraverso i vasi e i tessuti, microbi vivi e virulenti, noi già l'osservammo nell'esperienza eseguite nel lavoro su citato.

Gli esperimenti mostrarono che dal sangue, ove si erano iniettati, compaiono nell'essudato peritoneale, al pari delle particelle che non han vita (per es. granuli di carminio), anche i microbi vivi e virulenti, e tanto quelli fra essi che sono dotati di motività propria (colera, tifo) quanto quelli affatto immobili (stafilococco piogene aureo, bacilli tubercolari vivi e morti), come pure microbi non patogeni (sarcina lutea, prodigioso).

L'azione dannosa che i batteri fagocitati spesso esercitano sulla cellula non fanno che affrettarne il disfacimento, quindi il reperto di pochi batteri liberi nell'essudato non autorizza a concludere che essi vi siano emigrati spontaneamente. La migrazione spontanea dei microbi infettivi attraverso le membrane anatomicamente integre dell'organismo fu giustamente negata; poichè i batteri non circolano liberi nel sangue se non quando, moltiplicati e cresciuti straordinariamente in numero, han preso il sopravvento sui leucociti; ma allora il processo d'infezione è d'ordinario molto avanzato, per cui nei vari organi e tessuti vien meno ogni origine alla diffusione dei germi infettivi.

Abbiamo già detto che per quanto diversa sia la reazione dell'organismo nei singoli campi, si può però stabilire, che contro tutte le indifferenze individuali dei batteri e dei loro prodotti, stanno forme fondamentali tipiche di difesa, di natura cellulare ed

umorale. Noi non possiamo seguire le vari fasi delle basi fisiologiche dell'immunità nei bellissimi studi di Ehrlich e del Centanni, però conviene dare una spiegazione alla parola immunità: tutti sanno che dopo la guarigione della maggior parte delle malattie infettive si produce nell'organismo un mutamento, per mezzo del quale l'organismo diventa refrattario, o almeno sensibile in minor grado, verso la stessa malattia. Così si può comprendere come esistano diverse maniere di immunità; immunità attiva, immunità passiva; immunità antitossica, battericida e cellulare, che hanno fra di loro molteplici termini di passaggio; immunità istogena, immunità acquisita.

Noi abbiamo fatto anche cenno della specificità dei fermenti (Pozzilli « Sul valore antitriptico del siero di sangue nelle infezioni acute, 1912), appartenendo questi alla grande famiglia dei catalizzatori, degli agenti cioè che con la loro presenza hanno il potere di accelerare le reazioni, le quali lasciate a sé, impiegherebbero un tempo indefinitamente lungo per compiersi. In connessione con questo può mettersi l'osservazione di Jochmann e nostra (V. lavoro citato), che si ottiene fermento antitriptico, adoperando come vaccino i leucociti, nei quali sappiamo che è contenuta enterochinasi. Per la pepsina la difficoltà deve riferirsi al fatto che non è essa che funziona da antigene, come facemmo rilevare, ma la molecola dell'acidoproteina che fa da connessione tra proteina e fermento. Emerge qui l'ufficio fondamentale delle chinasi anche per i fenomeni immunitari: gli antifementi non sarebbero che antichinasi, e in realtà la chinasi è propriamente quella che ha funzione di aptofora per lo stimolo formativo sul ricettore cellulare.

Tornando alla questione della continua tensione di difesa da parte dell'organismo, per neutralizzare il prevalere delle forze batteriche, ricordiamo che la lotta è silenziosa, e di essa non ci accorgiamo, finché i meccanismi correttivi restano nei limiti della loro efficienza; ma appena ne è superata la potenzialità, l'equilibrio si rompe e la insufficienza si fa palese sotto forma di malattia. Perché però la malattia si manifesti è necessario che l'elevazione della causa offensiva sia improvvisa: quando è graduale, è legge biologica che si stabilisca per via di compensi uno stato di progressivo adattamento.

Questi compensi si svolgono, come fa rilevare il Centanni, sebbene con diversa potenzialità, di fronte a tutte le specie di agenti offensivi: fisici, chimici o batterici. L'immunità si deve intendere come facoltà difensiva nel più largo senso, contro le cause nocive di qualsiasi natura e con qualsiasi sistema di protezione effettuata.

A meglio intendere i processi di difesa organica, riesce molto istruttivo lo studio della reazione cellulare ed umorale di fronte ad elementi voluminosi per sfuggire all'inglobamento per parte di una sola cellula ameboide; come si comportano allora i leucociti? Essi isolano del pari detti elementi, formando loro attorno degli ammassi circolari. Si è oggi convinti che producendo una iperleucocitosi, si ottiene un aumento della resistenza naturale contro gli agenti infettivi, e non sono mancati già innumerevoli tentativi per un impiego terapeutico della iperleucocitosi.

L'aumento della resistenza naturale nella iperleucocitosi sarebbe dovuto a ciò che i leucociti cresciuti in numero e sotto l'azione di un modico stimolo segregano maggior quantità di sostanze battericide.

Come si esprime il Centanni, tutto nelle manifestazioni della materia è specifico, cioè le reazioni si svolgono sempre tra energie che si corrispondono; l'attributo *aspecifico*, inteso nello stretto significato, sarebbe un controsenso in natura; peraltro nel campo biologico si è convenuto di fare della specificità la distinzione in due forme: una specificità di specie ed una costituzionale. La prima è inerente a particolarissime architetture molecolari nel protoplasma della data specie, che ne forma l'impronta caratteristica da farla riconoscere fra tutte; la seconda esprime semplicemente la corrispondenza di struttura

fra le molecole poste a reagire. Viene in questo caso adoperato in biologia il termine *aspecifico*. Per esempio è specifica l'agglutinina del tifo, perchè tutti gli esseri è propria solo del bacillo del tifo; ma anche la molecola di glucosio, che è comune agli esseri ha la sua specificità ben definita: la specificità costituzionale.

Quando invece la molecola proteica si spezza, l'impronta della specie si cancella, e nelle sue frazioni subentrano le affinità costituzionali.

La esistenza nell'organismo di fermenti difensivi non è solo la conseguenza di stimolo artificiale, ma come abbiamo già visto, anche le condizioni normali se ne svelano presenti o in circolo o pronti ad essere mobilizzati da centri di riserva. Molti fatti concorrono a far ritenere che sono i leucociti gli agenti fondamentali della difesa parenterale. Le proprietà fermentative del siero allo stato normale sono molto limitate, anzi esiste il più spesso, come abbiamo dimostrato, potere antitriptico; gli anticorpi specifici si trovano sempre in deboli proporzioni.

Di fronte a ciò contrasta vivamente l'estremo sviluppo del sistema linfatico, il massimo fra tutto, la trama anzi dell'organismo entro cui i parenchimi stanno immersi, ed hanno la via per i loro scambi nutritizi. In ogni focolaio l'irritazione, ad ogni penetrazione eterogenea, i leucociti rispondono nell'accorrere in massa. Partecipano all'assorbimento dell'alimento (leucocitosi digestiva); ed oltre a ciò è da ritenere che non minori debbano essere le loro attività chimiche esplicantisi, sia nell'interno del globulo sopra ai corpi assorbiti, sia all'esterno per i prodotti che diffondono nell'ambiente degli umori.

In sostanza noi possiamo dire che il fenomeno fagocitario si svolge in due tempi, per ciascuno dei quali opera un fattore distinto: nel primo la presa della particella sulla guida di sostanze chemiotattiche; nel secondo la digestione della particella inclusa con l'intervento dei fermenti endocellulari. Diguisachè noi potremo dire che la reazione immunitaria è una reazione di natura fermentativa sulla base della digestione parenterale: il che è la giusta definizione della immunità antigene, e costituisce una delle maggiori conquiste in biologia.

In seguito alla teoria della immunità stomogene di Centanni, per cui egli applicò il nome di stomoterapia al fenomeno, sono sorti diversi altri metodi di cura e di prevenzione delle malattie infettive, tra cui ci piace di ricordare la *proteïnoterapia*.

È il nome introdotto da Schmidt, dopo conosciuto, per le prove sul latte, che la reazione era pura opera di albumine eterogenee: esso è ora impiegato correntemente ed è divenuto il più comune; vi si debbono naturalmente far rientrare anche i batteri, che qui funzionano semplicemente come proteina eterogenea.

Come si è arrivati, si domanda il Centanni, dopo partiti da vaccini batterici, a ricondurre l'agente promotore della stomoterapia a semplice proteina, integra o scissa, qualunque ne fosse la provenienza? Nella storia della proteïnoterapia assume molto interesse la discussione che subito dopo la scoperta della tubercolina di Koch, si ingaggiò per stabilire se la reazione era o no di natura specifica. Fu dimostrato che l'estratto glicerico, in egual modo preparato da altri batteri, e anche a pari dose, era capace di promuovere la stessa reazione.

Fra le innumerevoli esperienze susseguite e il sorgere della moderna proteïnoterapia, si inseriscono le molteplici prove dell'azione terapeutica del siero normale e dei vaccini aspecifici.

Che un animale vaccinato per una infezione potesse resistere anche contro una infezione diversa fu, come ogni probabilità, le prime volte frutto di una pura combinazione, per essere un animale già trattato, impiegato nuovo per l'innesco di un'altra infezione. Secondo me deve aver contribuito a ciò anche il punto di vista, sostenuto del

resto fin dai primi studi del Metschnikoff, che qualsiasi stimolo capace di elevare l'attività leucocitaria, porti contemporaneamente un ufficio difensivo.

Le esperienze in quest'ordine di idee dimostrarono che il trattamento endoperitoneale con diversi germi patogeni e non patogeni, valeva a conferire resistenza contro dosi mortali di colera, tifo, streptococco, ecc. Questa resistenza era dal Metschnikoff riportata a stimolazione e richiamo peritoneale di leucociti

Altri autori dimostrarono infatti che bastava la semplice iniezione endoperitoneale di siero normale di uomo per proteggere contro la infezione per la stessa via del colera e del tifo.

Di questi eccitanti peritoneali aspecifici fu esteso l'esame, e l'Issaeff trovò che, presa come unità mortale 1/15^o di ansa di coltura colerica nella cavia, se si iniettava 24 ore prima un cmc. delle seguenti sostanze, la dose infettante si elevava: per l'acqua a 1/3 di ansa, per l'urina a 1, per il brodo a 2/3, per il siero di cavia a 3/4, per la nucleina e la tuberculina a un'ansa intera; dopo 4-5 giorni l'effetto era cessato.

L'effetto protettivo locale del peritoneo della iniezione di acido nucleinico, confermato sperimentalmente da diversi autori contro infezioni svariate, e perfino contro l'uscita delle feci da ferite intestinali, fece sì, che nella pratica tale iniezione venisse adottata come misura precauzionale, prima della laparotomia da alcuni clinici (Mikulicz, Brunz).

Pfeiffer e Issaeff ritornarono su questa resistenza peritoneale conferita dai batteri, e ne poterono constatare le differenze con la immunità comune aspecifica, non molto forte, a inizio rapido al secondo giorno e termine verso il decimo; cosicchè per distinguerla dalla immunità ad anticorpi specifici, Pfeiffer propose per essa la designazione di innalzamento di resistenza.

Per la interpretazione sulla natura del fatto, si considerava come fenomeno di carattere locale collegato al richiamo dei leucociti, mentre con successive esperienze fu dimostrato che era una resistenza generale, e in queste esperienze sono i primi chiari esordi della proteinoterapia specifica e aspecifica. In questi ultimi tempi, specialmente dopo le meravigliose prove di Wright, si è entrati nel concetto della aspecificità, e per chi nutrisse ancora dei dissensi verso la aspecificità, non posso che rimandare alle parole dell'eminente batteriologo inglese che disse alla facoltà medica di Parigi nel febbraio del 1919. Egli concludeva dicendo che anzitutto era da metter da un lato la nostra fede cieca nel dogma che ogni immunizzazione debba essere strettamente specifica.

Sulla guida dei fatti osservati e soprattutto sulle esperienze eseguite da tempo con le iniezioni di acido nucleinico, il *Serono* è venuto nella determinazione di istituire mediante il prodotto - *leucoplasi* - un largo esperimento, per dimostrare come sia possibile agire con la proteinoterapia aspecifica specialmente nelle infezioni che si mantengono per un certo periodo localizzate (tumori infiammatori, ascessi, infezioni stafilococciche e streptococciche localizzate, appendiciti, reumatismo articolare acuto, ecc.). Egli è partito dalla concezione che la proteinoterapia aspecifica, quando sia praticata in tempo può riuscire utile nelle varie malattie infettive, poichè l'organismo si difende e reagisce di fronte alle proteine eterogenee, come abbiamo visto, nello stesso modo come nelle malattie infettive in cui la reazione è da prima generica e solo più tardi diventa specifica.

In sostanza se noi seguiamo il concetto di Friedberger, secondo il quale la malattia infettiva non sarebbe altro che una anafilassi continuata, una intossicazione cioè sostenuta dal veleno unico, anafilotossina, troviamo che i batteri non posseggono veleni formati, e il loro protoplasma a carattere innocente al pari delle albumine dei sieri eterogenei, ma che però, con lo sciogliersi del corpo batterico, il protoplasma viene riassorbito, e, come ogni albumina eterogenea, promuove la reazione anafilattica, tanto più intensa, quanto più grande è la distanza del regno batterico da quello animale.

Una facile obiezione a tale teoria è quella che se con piccole iniezioni continue di anafilotossina preformata si riesce a ripetere il quadro febbrile, quando invece si usano allo stesso scopo semplicemente delle proteine eterogenee, non si riesce a rendere continuativo il quadro, e le iniezioni cessano presto di agire. Questo indica che l'opera fermentativa del solo sangue si esaurisce presto (Centanni); la continua penetrazione in circolo di antigeni batterici funziona come le iniezioni frazionate del Besredka, e presto viene a stabilirsi lo stato di antianafilassi. Solo la copia inesauribile dei fermenti anticellulari dell'organismo può sostenere senza sosta la continuità di febbri per settimane e mesi.

Da questi concetti, non solamente teorici, ma che hanno già avuto l'accertamento sperimentale, è partito il *Serono* nella costituzione della *Leucoplasii*.

Abbiamo già accennato che la proteinoterapia aspecifica si applica nelle varie malattie infettive specialmente se localizzate; ma anche nelle forme diffuse, come il tifo, la febbre miltense, il morbillo, la scarlattina, è utile la proteinoterapia come vedremo, se applicata in tempo opportuno.

Diciamo subito peraltro che la proteinoterapia aspecifica, eseguita mediante la *leucoplasii Serono* non deve adoperarsi nella tubercolosi polmonare, inquantochè essa infezione merita una nota distinta nella questione, essendo i principii che regolano il suo trattamento in condizioni di particolare gravità.

Queste condizioni, nell'infezione tubercolare, possono ridursi a due: l'una, che cioè nella tubercolosi polmonare si tratta di un bacillo tenace e resistente più che tutti, cinto da un involucro di sostanza cereo-grassa che offre la maggiore difficoltà ad essere attaccato dagli agenti difensivi dell'organismo; l'altra, ancor più importante, che il bacillo appena s'insedia nei tessuti, si forma attorno per mezzo dei suoi secreti tossici, il tubercolo che è il suo inespugnabile fortilizio.

Vari sono stati i prodotti usati nella proteinoterapia aspecifica: il peptone, la caseina, il latte, il siero di sangue, il sangue ed i vaccini aspecifici; ma questi prodotti hanno l'inconveniente, quasi tutti, di avere una composizione molto varia, che ne rende difficile la posologia ed infida la reazione individuale.

Per avere un prodotto di formula assolutamente costante e di reazione facilmente dosabile, il *Serono* ha preparato la *leucoplasii*, la quale non è altro che una soluzione di timonucleinato di sodio al 2% in siero fisiologico, ottenuta da timi fisiologicamente attivi, previo controllo fisiologico.

La questione delle proprietà del timo era già studiata, e il Dustin nel XIV° Congresso francese di medicina (Maggio 1920) faceva osservare che da osservazioni istologiche e fisiologiche, il timo può ritenersi che agisce come centro di regolarizzazione e di ripartizione delle nucleine e dei loro derivati nell'organismo. Esso non agisce, secondo il Dustin, come una vera glandola per la sua secrezione, ma per la fissazione di sostanze del gruppo del nucleoproteidi. Delle nozioni sull'intervento del timo nel ciclo biologico delle nucleine energogene ed istogene, il Dustin trae importanti conclusioni sulla patologia del timo, sulle formazioni linfoidi e sui tumori.

La questione fu ripresa dal Baggio, per la conoscenza del timo nei suoi rapporti funzionali con la milza e coi globuli bianchi del sangue. Egli comunicò nel Gennaio del 1921 alla R. Accademia Medica di Roma che, alla constatazione già segnalata in passato, che dopo asportazione del timo si aveva nei conigli una diminuzione dei linfociti circolanti nel sangue, fu riscontrata la constatazione che asportato il timo si ha pure nello stesso animale come risultato di massima una riduzione di volume della milza.

Il Baggio crede che per quanto non dimostrato tassativamente dal relativo reperto istologico, sia verosimile che ambedue questi reperti rispondono ad un unico meccanismo

genetico. Rimanendo entro l'orbita delle concezioni maggiormente accettate nel campo dell'endocrinologia, riconosciuto il timo come organo a secrezione interna, e ammessa una funzione regolatrice del vago nella produzione dei leucociti e sulla loro distribuzione in circolo, i risultati fra di loro affini che il Baggio ha ottenuto in seguito a stimolazione - diminuzione di numero dei leucociti e riduzione di volume della milza - dovrebbero essere argomento non indifferente a sostegno della ipotesi che il timo eserciti normalmente un'azione di stimolo su quella parte del sistema neurovegetativo che va col nome di sistema del vago o autonomo o parasimpatico.

È noto che nella proteinoterapia le piccole dosi agiscono come stimolanti e sono quelle veramente utili; dosi alte diminuiscono ed anche paralizzano l'attività vitale e quindi sono da evitarsi. Bisogna quindi saggiare la reazione individuale; perciò *Serono* consiglia di iniziare sempre la terapia con le più piccole dosi, e pertanto ha preparato la *leucoplasì* in fiale da uno, da due, e da cinque cc.; nel primo grado sono mmgr. 25 di timonucleinato, nel secondo mmgr. 50, nel terzo mmgr. 125.

Prima di esporre i risultati dei nostri esperimenti e delle nostre applicazioni cliniche, è bene ricordare che, nel quadro della malattia infettiva è manifesta la sua fisionomia di intossicazione: la sorgente non se ne può ricercare altrove che tra i prodotti che si svolgono, sia dagli organismi batterici, sia dalle cellule dei tessuti alterati.

Fra i veleni infettivi abbiamo veduto come le tossine vere specifiche entrano per una quantità quasi trascurabile; così esigua ed eccezionale è la categoria dei germi che regolarmente le producono: in tutti gli altri il dominio è tenuto dalle endotossine.

Mentre la tossicità dei batteri è stata fin dai primi tempi riconosciuta dalla batteriologia, non altrettanto può dirsi per i veleni dei tessuti: solo più tardi, con lo svolgersi degli studi sulle citotossine e sulla anafilassi, si è messo in chiaro che i protoplasmi eterogeneizzati possono funzionare da tossici, dato il carattere di antigene che da essi è assunto. Il fondamento della unicità del veleno infettivo poggia, come sappiamo, su due ordini di fatti sul chimico, che dimostra come tanto la pirotossina quanto l'anafilotossina posseggono caratteri comuni, da qualsiasi materiale originario provengano; il sintomatologico, per cui nella molteplicità del quadro clinico si ritrova sempre un complesso di manifestazioni comuni per tutte.

Da ciò deriva il postulato che l'efficacia della proteinoterapia aspecifica dipende da vari fattori: 1) dal modo in cui reagisce l'organismo; la terapia deve perciò sempre cercare di aumentare contemporaneamente le forze reattive dell'organismo; 2) da reazioni fisico-chimiche, e ciò specialmente nell'anafilassi; 3) da processi di catalizzazione, avvicinando quest'ultimo fattore intimamente la proteinoterapia alla immunoterapia ed alla chemioterapia.

Esperienze con la leucoplasì

Nelle nostre esperienze, eseguite con rigore di metodo, si immunizzavano due conigli con microbi di diversa specie previamente uccisi od attenuati esponendoli per la durata di un'ora a temperature variabili di 60-70 C.

Venivano inoculati d'ordinario nelle vene auricolari in dose di 1 o di 3/4 di patina di un'agarcoltura emulsionata in liquido fisiologico.

Si era pensato di tener conto della rapidità con cui si svolgeva la reazione leucocitaria degli organi linfoidi in un medesimo animale sottoposto ad inoculazioni successive: ma poichè le reazioni di detti organi variano con la quantità dei germi inoculati, col loro grado di attenuazione e per altre circostanze, abbiamo creduto più rispondenti

allo scopo, confrontare le reazioni degli organi linfoidi susseguenti alle inoculazioni in più animali diversi, l'uno immunizzato, l'altro normale ovvero immunizzato verso microbi d'altra specie.

Si inoculava pertanto contemporaneamente a detti animali la stessa emulsione di batteri, e se ne esaminava ad eguali intervalli di tempo il sangue che veniva costantemente preso dalle vene periferiche dell'orecchio, senza legare nè narcotizzare l'animale, al fine di evitare le variazioni che nel numero dei leucociti circolanti spesso portano la narcosi, il raffreddamento, lo choc.

Successivamente i due animali venivano inoculati con una iniezione di *leucoplasia*, e a varii intervalli di tempo si eseguivano le conte dei globuli bianchi, per giudicare anzitutto in qual modo gli organi linfoidi reagiscono allo stimolo della proteino-terapia aspecifica; diciamo subito che le cellule bianche del sangue compaiono ad ondate, per guisa che già nello spazio di pochi minuti o di qualche ora dopo l'iniezione di leucoplasia si possono osservare nella cifra dei leucociti circolanti oscillazioni amplissime per una differenza di molte migliaia di globuli bianchi.

Naturalmente a rendere più difficile il giudizio negli esperimenti di controllo, occorre il fatto che le varie ondate si effettuano in tempi diversi nei diversi animali, e non vale eseguire le conte alla stessa distanza di tempo dall'inoculazione: le cifre che si ottengono discordano, poichè accade che in uno degli animali di controllo si coglie l'esame di un'ondata di leucociti, mentre nell'altro ci si imbatte nel piede della linea di discesa. A tale inconveniente potrebbe avviarsi eseguendo conte a brevissimi intervalli di tempo; ma a ciò si oppongono vere difficoltà tecniche, poichè le vene auricolari del coniglio, l'animale che più si presta per dette ricerche, negli stadii di depressa circolazione e di ischemia non lasciano fuoriuscire affatto o solo scarsissima quantità di sangue, in cui la proporzione dei globuli bianchi è alterata e per lo più notevolmente accresciuta.

Malgrado ciò, prendendo in esame le nostre esperienze, si scorge che la reazione leucocitaria degli organi linfoidi è più pronta nell'animale nel quale sia stata iniettata la leucoplasia di quello che nell'animale nuovo, ciò emerge anche dalle esperienze di controllo fatto inoculando a due diversi animali l'uno immunizzato, l'altro no, una egual dose di una stessa fiala di leucoplasia.

In alcuni animali per altro, soprattutto nel tifo in cui, come sappiamo, esiste leucopenia, noi osservavamo che alla fase immediata di ipoleucocitosi, seguiva, dopo l'inoculazione di leucoplasia, alla distanza di 20-30 minuti un aumento relativo nelle cifre dei leucociti nel sangue, poi il loro numero tornava di nuovo a discendere. Verosimilmente dobbiamo pensare che i prodotti tossici non erano stati completamente distrutti e che sia pure in piccola quantità, colla loro rapida diffusione nell'organismo avevano portato una immediata irritazione negli organi emopoietici su quelle cellule già mature o quasi, ivi esistenti, le quali non mancavano che dello stimolo che ne eccitasse la contrattilità, per passare prontamente in circolo. Ma a tal riguardo è notevole, nell'esperienza da noi rilevata, il fatto che dei tre animali inoculati presentarono una iperleucocitosi transitoria di gran lunga più accentuata (fino a raggiungere le cifre di 24.000 e di 24.600 leucociti) i due conigli già inoculati verso il tifo, mentre nell'animale normale se ne constatò appena un accenno, il che conforta l'ipotesi che la sensibilità degli organi linfoidi agli stimoli sia nei primi aumentata, e nel tempo stesso fa pensare che negli stessi organi linfoidi dei due primi animali le cellule in preparazione compiano più rapidamente le loro ultime fasi di sviluppo per passare tosto in circolo. Naturalmente nel corso della esperienza sui nostri animali, non si è mai trascurato di accertarci della cifra dei leucociti già esistenti in circolo.

Dalle nostre esperienze sugli animali (conigli) non sembrano emergere notevoli differenze, cosicchè parrebbe doversi ammettere che la reazione degli organi linfoidi, abbia, rispetto alle iniezioni di leucoplasmi, un carattere strettamente specifico.

Ma non oseremo formulare in merito una vera conclusione, oltre che per il numero limitato delle esperienze, anche per il fatto che i batteri non sono forse i più adatti a decidere la questione, le sostanze proteiche dei loro corpi non sono ben definite e verosimilmente ve ne possono essere nei diversi batteri di quelle ad azione eguale ed analoga.

Nel riferire i risultati complessivi delle esperienze sulla reazione leucocitaria degli organi linfoidi alla iniezione di leucoplasmi, noi peraltro ci siamo attenuti fedelmente ai fatti osservati; e dall'insieme di dette ricerche ci sembra si possa concludere che l'organismo risponde all'immissione di una iniezione di leucoplasmi con una reazione leucocitaria più pronta.

APPLICAZIONI CLINICHE

Le diverse malattie richiedono certamente una selezione per le applicazioni immunitarie in genere e per la proteino-terapia aspecifica, mediante la *leucoplasmi*, in ispecie, in relazione alla natura o al genere di azione che si vuole su di esse esercitare. Abbiamo già detto le ragioni per cui nella tubercolosi polmonare, ad esempio, non deve applicarsi tale terapia; ma senza scendere ai particolari per ogni forma, noi abbiamo scelto i tipi più caratteristici delle malattie a germi tossici, soprattutto all'inizio della malattia infettiva stessa (tifo, morbillo, scarlattina, erisipela, reumatismo articolare acuto, angina, polmonite, febbre melitense).

Le idee direttive sono tratte dai concetti espressi già nella discussione generale.

Nell'applicazione della terapia mediante la *leucoplasmi*, nei casi incipienti si sono iniettate subito piccole dosi del primo grado, nei casi gravi una fiala intera del primo grado, ed anche del secondo e del terzo grado, ripetendo dopo uno o due giorni l'iniezione a seconda dell'effetto ottenuto.

La via ordinaria di iniezione è la sottocutanea: in ogni caso sono state sufficienti cinque iniezioni al massimo per ottenere l'effetto terapeutico desiderato, quando l'individuo ha reagito positivamente. La *leucoplasmi* è stata sempre ben tollerata, raramente ha dato lievi ipertemie, e mai nessuna reazione locale.

Osservazione prima

R. G. Giovane affetto da tifo (sierodiagnosi di Widal positiva 1/100); si inietta la leucoplasmi nella dose di una fiala da mmgr. 25 al 14° giorno di malattia, dopo cioè che la sierodiagnosi ci aveva dato responso positivo; la temperatura che era rimasta per tutto il secondo settenario al disopra di 39, scende rapidamente a 37,5 per poi risalire a 38,8 e mantenersi per circa 12 ore quasi costante a quest'altezza; si inietta a 24 ore di distanza una seconda fiala da mmgr. 50, la temperatura scende al di sotto di 37, per risalire dopo circa 8 ore a 38; nel giorno successivo però la temperatura spontaneamente tende a discendere, sicchè non fa bisogno di ricorrere ad una terza iniezione di leucoplasmi. Dopo 5 giorni il malato è completamente apirettico.

Osservazione seconda

A. L. Giovanetta affetta da paratifo B. (sierodiagnosi positiva). La malattia si presenta fin dai primi giorni ad andamento assai irregolare, per cui vengono tentate varie cure senza efficacia, quando al 18° giorno si inietta la leucoplasmi nella dose di un fiala da mmgr. 25; nel giorno successivo una seconda della stessa dose, e nel terzo giorno una terza iniezione pure della stessa dose. Assistiamo ad una regolarizzazione immediata della temperatura, per

quanto subito dopo la prima iniezione si sia avuta una ipertermia notevole, si da raggiungere il 40,2. Ma dopo, la temperatura scende al di sotto di 37, e, eccetto qualche breve risollevarmento termico a 37,4, la temperatura si mantiene costantemente al di sotto della normale. Abbiamo seguito in questo caso le modificazioni della temperatura che si ottengono con la iniezione di leucoplasmi, ed abbiamo potuto rilevare il fenomeno comune a tutte le proteinoterapie e dei loro prodotti di scissione, che cioè nella reazione febbrile, abbia larga parte l'attacco disintegrativo dei protoplasmii dei tessuti offesi dalle cause patologene. Accettando il concetto che la febbre sia un indice di stimolo rispettivo alla proteina iniettata noi troviamo che effettivamente in rapporto alla regolarizzazione dispersiva del calore, la leucoplasmi abbia agito in primo tempo come ipertermica, mentre successivamente abbia determinato un vero e proprio ufficio curativo della infezione.

Abbiamo voluto anche osservare la modificazione che si riferisce ai leucociti; essa è manifesta e presto rilevata, analogamente a quanto abbiamo visto avvenire nelle esperienze sui conigli: è spiccata infatti la leucocitosi immediatamente dopo l'iniezione di leucoplasmi, e i leucociti più interessati in questa modificazione sono i polinucleati neutrofilii; per gli altri le oscillazioni sono assai relative. Ciò è tanto più importante in quanto noi sappiamo che la leucopenia si accompagna sempre nel corso del tifo e del paratifo. Sappiamo anche che la leucopenia resiste alle più intense stimolazioni impresse per eliminarla, il che quando i leucociti tendono ad elevarsi è buon prognostico per la guarigione: la grafica dei leucociti sembra svolgersi parallela alla scomparsa dei tossici, in seguito alla iniezione di leucoplasmi. Le piastrine seguono la sorte dei leucociti: alla primitiva piastrinopenia segue un forte aumento. Ma quel che è più importante nella osservazione attuale è il fatto che negli organi ematopoietici, l'iniezione di leucoplasmi porta un'eccitazione di attività: stato congestivo, esaltazione dell'apparato reticolo-endoteliale, moltiplicazione degli elementi. Questo fa indurre che la leucocitosi sia vero fenomeno di reazione proteinica, verificatasi per il caso della leucoplasmi, di fronte al nucleinato di sodio ed al timo.

Osservazione terza

S. R. Bambino affetto da morbillo; ha dopo quattro giorni dalla malattia una localizzazione di pneumonite lobare del lobo inferiore destro. Si inietta la leucoplasmi nella dose di mezza fiala da mmgr. 25, il giorno successivo una fiala intera, e così il terzo giorno. La malattia svolge rapidamente a guarigione. L'esame del sangue fa rilevare una iperleucocitosi intensissima; il bambino si rimette rapidamente dallo stato di notevole abbattimento in cui era nei primi giorni di malattia.

Osservazione quarta

B. N. Bambina affetta da scarlattina. Fin dal terzo giorno della malattia le condizioni della piccola inferma sono piuttosto gravi, sicchè non si induge nella terapia della leucoplasmi, iniettando nel primo giorno soltanto due terzi di fiala del 1° grado, ma dopo 24 ore non avendosi una soddisfacente miglioria, si inietta una fiala intera, e dopo 12 ore una terza fiala sempre da mmgr. 25. Si assiste anche in questo caso ad una ipertemia, seguita da una quasi immediata fase di traspirazione, con defervescenza della temperatura, che, al quarto giorno dalla prima iniezione è al di sotto di 37. Le modificazioni degli elementi morfologici del sangue sono manifeste e rilevabili soprattutto a carico dei polinucleari.

Osservazione quinta

F. G. Donna affetta da erisipela della faccia e del capo. Si inietta subito fin dal primo giorno una fiala da 50 mmgr. di leucoplasmi. La temperatura che prima della iniezione era soltanto di 37,8, sale dopo 3 ore dalla iniezione a 39,5, per poi ridiscendere quasi subito al di sotto di 37. Al terzo giorno di malattia si inietta una seconda fiala di 50 mmgr.: l'affezione non è ancora vinta, sicchè abbisognano altre due iniezioni di 50 mmgr. ciascuna segui-

tesi a distanza di 24 ore l'una dall'altra. Assistiamo ad una risoluzione molto rapida e completa della malattia, senza che la malata risenta menomamente l'influenza della reazione proteinica verificatasi dopo la prima iniezione.

Osservazione sesta

G. G. Ragazzo affetto da reumatismo articolare acuto, con localizzazioni soprattutto a carico dei gomiti, dell'articolazione del carpo destro, e del ginocchio sinistro. La malattia decorre già da 7-8 giorni in maniera piuttosto grave, e si teme anche una complicanza endocardica. Si inietta la leucoplasia per cinque giorni di seguito nella dose sempre costante di 50 mmgr. Assistiamo progressivamente e rapidamente ad un miglioramento non solo delle condizioni locali, ma, ciò che più importa, anche nelle condizioni generali dell'infermo. Esso aveva risentito dopo la prima e dopo la seconda iniezione una forte reazione proteinica, con rialzo termico, stato di ansia e di lieve delirio; mentre una o due ore dopo si ristabilisce la condizione di uno stato perfettamente normale, con scomparsa quasi totale della temperatura. In questo caso abbiamo avuto anche modificazioni a carico della cute, cioè con eruzione urticariforme, analoga a quella della malattia da siero. Ma sappiamo che la frequenza d'eruzioni nel corso delle malattie infettive fa pensare che, oltre quelle innegabilmente dovute a localizzazione del virus, ve ne siano altre di pura origine proteotossica a carattere generico. Tanto nella stasi calorica durante la febbre, come durante la traspirazione di sudore che accompagna la crisi, non si può non riconoscere un avvelenamento nel primo caso e un avvelenamento nel secondo.

Nel caso in esame abbiamo assistito anche a modificazioni dell'apparato renale: l'albuminuria, regolare nelle malattie febbrili ed anche dopo la iniezione di leucoplasia, trova una prima interpretazione quale effetto di alterato filtro per l'offesa riportata dagli epiteli da parte dei tossici infettivi. Perciò bisogna pensare, come suggerisce Semmla, che si tratti di un fenomeno attivo di secrezione per espellere dal circolo albumine diventate eterogenee. Nel nostro malato potemmo altresì rilevare il fatto che dopo la quinta iniezione, l'albuminuria era totalmente scomparsa.

Le manifestazioni da parte del sistema nervoso che abbiamo riscontrate nel nostro caso in seguito alla iniezione di leucoplasia, sono comuni alle iniezioni di proteine eterogenee, ma niente affatto da temersi, ritenendosi che il sistema nervoso diventa, di fronte ai veleni proteici, il più sensibile reagente.

Avendo avuto occasione, come si è accennato, di sperimentare la leucoplasia in numerosi malati delle più svariate infezioni acute, l'elencazione dei singoli casi ci porterebbe ad una pressochè inutile ripetizione per la dimostrazione delle modificazioni della temperatura, di quelle relative al sangue e a quelle riportate dai tessuti nei singoli casi avuti in osservazione.

Guardato il quesito che ci siamo posto fin dal principio del nostro studio sperimentale e clinico, sommariamente descritto, ed esaminato sotto ogni più vario aspetto, tutto tende a dimostrare che sintomatologia del processo infettivo e sintomatologia da reazione a proteine eterogenee (nel nostro caso alla *leucoplasia*), vanno fra loro perfettamente parallele; onde il processo viene a risultare come una vicenda di intossicazione e di reazione sulla base unica dei derivati proteici. Con ciò è possibile intendere come il quadro della malattia infettiva, che parrebbe di una infinità varietà, possa trovare una unità di sintomatologia e di agente neutralizzatore.

La unicità di tipo del veleno infettivo causale, secondo la concezione di Centanni e di Friedberger, trova nell'opinione di molti un contrasto col quadro ben individuato, sotto cui si manifestano in clinica le diverse malattie infettive.

Però anche dal lato clinico si dovrà riconoscere che la infezione per sé stessa presenta una propria estrinsecazione che la fa riconoscere anche volgarmente come tale, anche prima che ne siano stabilite la localizzazione e la natura. È vero che di processi ad unità etiologica, svolgentisi con polimorfismo clinico, ne troviamo esempi in tutta la patologia, come l'infezione sifilitica e quella tubercolare, ma dobbiamo anche ricordare che la sede di localizzazione di una malattia è determinata dalle più facili condizioni di centagio, come pure dal terreno più favorevole che un dato organo offre allo sviluppo.

Quindi: localizzazione di focolaio, ciclo di sviluppo del germe, veleni collaterali, potere reattivo dell'organismo, sono tutti argomenti addotti a difesa dell'unicità del veleno infettivo.

La questione delle sostanze atte a suscitare la reazione di guarigione, abbiamo detto che si è sviluppata attraverso a una molteplicità dei più svariati tentativi. E come da principio si impiegarono gli stessi vaccini profilattici, e l'immunità stomogene restò confusa con quella antigene, le osservazioni accumulate attraverso prove empiriche e incontri accidentali han fatto sì che il vasto problema possa raccogliersi sotto una idea molto semplice: nella proteinoterapia aspecifica (eseguita mediante la *leucoplasì*), l'attore primo è una proteina con carattere di eterogeneità, la quale libera una chinasi attivatrice per la disintegrazione dei veleni endotossici. Con questa guida è facile riconoscere nella *leucoplasì* un meraviglioso effetto clinico, ponendo tale terapia nell'ingranaggio dei principii immunitari, come le esperienze sopra gli animali e gli esami biologici sopra i malati ci hanno dato modo di riscontrare.







