

#### 45. IL COMPORTAMENTO DEI MACROFAGI NELLE INFEZIONI DA PLASMODIUM ELONGATUM.

Le recenti ricerche sul ciclo esoeritrocitico che si rinviene in alcune specie di plasmodi aviari non sono sempre state perfettamente interpretate e talvolta si è dato identico significato a reperti estremamente diversi tra loro. Così è avvenuto che si sia parlato di uno sviluppo del *Plasmodium elongatum* nell'apparato reticolo endoteliale, e si sian paragonati i reperti ottenuti in questo plasmodio con quelli osservabili nel *P. gallinaceum* e nel *P. cathemerium*.

In vari studi precedenti (<sup>1-4</sup>) ho insistito sul fatto che il ciclo schizogonico del *P. elongatum* non può essere paragonato al ciclo di alcun altro plasmodio conosciuto. Non è nota infatti alcun'altra specie di emosporidio in cui il ciclo schizogonico si verifichi nelle cellule ematopoietiche.

Nel loro fondamentale lavoro sul *P. elongatum* Huff e Bloom (<sup>6</sup>) avevano osservato la presenza di questo plasmodio nei macrofagi. Benchè questi autori non si fossero pronunciati in modo definitivo sul significato di tale reperto, si era tuttavia venuta facendo strada l'opinione che almeno questo tipo di cellula istiocitaria fosse da considerarsi adatto per lo sviluppo del *P. elongatum*. Essendo i macrofagi unanimemente considerati elementi dell'apparato reticolo endoteliale, ne derivava che uno sviluppo del *P. elongatum* in cellule di questo apparato, sia pure in minima proporzione (3,7% delle cellule parassitate secondo Huff e Bloom), dovesse essere ammesso.

Nel presente lavoro si riferiscono alcune osservazioni dirette a chiarire se uno sviluppo del *P. elongatum* nei macrofagi sia realmente dimostrabile.

#### MATERIALE E TECNICA.

Recentemente al Laboratorio di Malariologia dell'Istituto di Sanità Pubblica, per cortese interessamento del dr. Hackett, è pervenuto un ceppo

di *P. elongatum* gentilmente inviato dal dr. Coggeshall del Rockefeller Institute for Medical Research di New-York.

Dodici canarini infettati con questo ceppo di *P. elongatum* e morti 6-27 giorni dopo la inoculazione sono stati utilizzati per le presenti ricerche.

I canarini studiati sono stati tutti infettati mediante inoculazione di sangue e si è lasciato che l'infezione avesse il suo decorso normale fino alla morte degli animali. Durante l'intero periodo di infezione si eseguiva giornalmente la ricerca dei parassiti nel sangue periferico.

Di ciascun canarino sono stati eseguiti preparati di fegato, milza e midollo osseo. La tecnica usata è stata la seguente: i preparati a striscio o per impressione venivano fissati allo stato umido in liquido di Carnoy e colorati col metodo di Romanowsky seguito da differenziazione in acetone e montaggio in balsamo.

#### RISULTATI DEGLI ESPERIMENTI.

Il decorso dell'infezione in ciascuno dei 12 canarini studiati viene riassunto nella tabella annessa. Dall'esame dei dati si osserva che la morte ha colpito i diversi animali dopo un'infezione di durata notevolmente variabile entro i limiti estremi di 1 e 20 giorni.

Lo studio degli organi ematopoietici e specialmente del midollo osseo ha dimostrato i noti reperti relativi a uno sviluppo dei parassiti nelle cellule ematiche ed ematopoietiche.

Ma il reperto che appariva di maggiore importanza era costituito dai macrofagi, nel cui citoplasma si rinvenivano numerosi elementi eterogenei. Anzitutto era presente pigmento sia in fini granuli giallo-bruni che in grosse masse di color nero intenso. Si trovavano inoltre inclusi parassiti in ogni stadio di sviluppo, alcuni dei quali ancora ben conservati, altri con più o meno evidenti segni di degenerazione. Era possibile infine rinvenire inglobati nel citoplasma interi eritrociti ed eritroblasti parassitati e non parassitati e masse globuliformi di varia grandezza di una sostanza simile in apparenza all'emoglobina.

La costanza di tale reperto in parecchie centinaia di macrofagi osservati rende legittima l'affermazione che queste cellule, nei suddetti stadi dell'infezione da *P. elongatum*, esplicano attivamente la loro funzione fa-

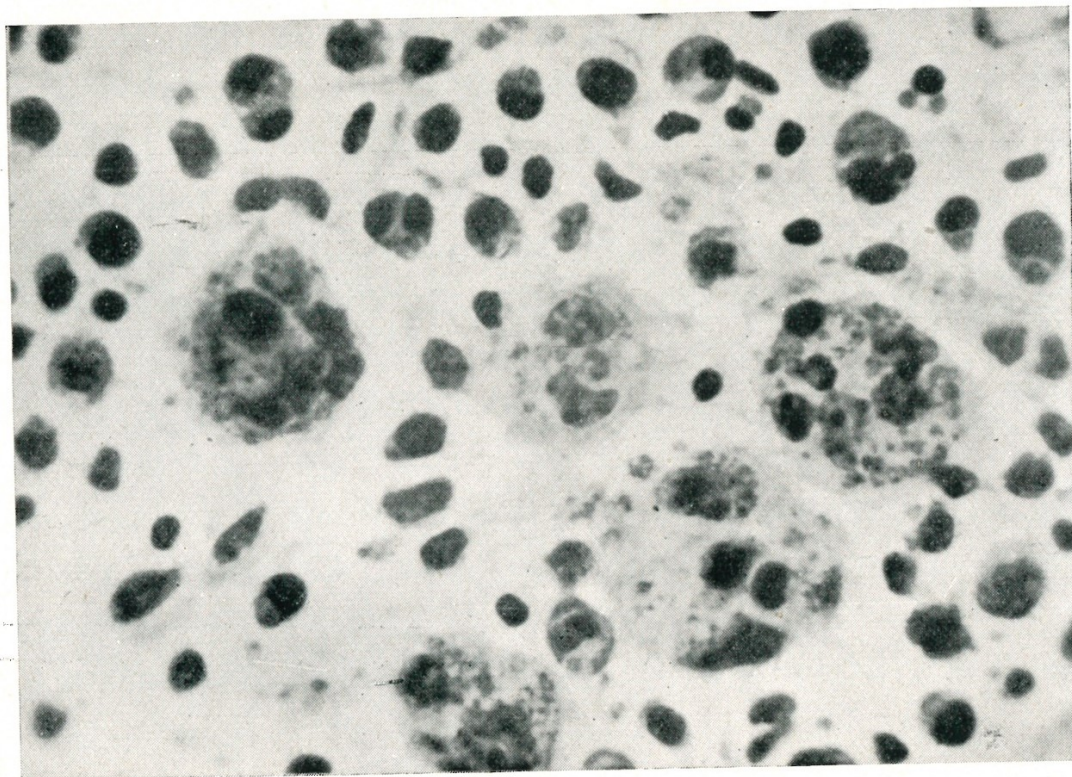


FIG. 1.

*Plasmodium elongatum*: Midollo osseo - Macrofagi in fagocitosi.

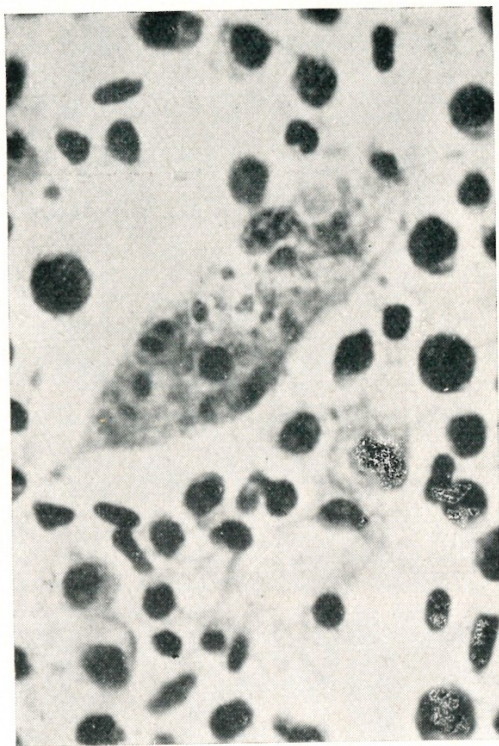


FIG. 2.

*Plasmodium elongatum*: Midollo osseo - Macrofago in fagocitosi.

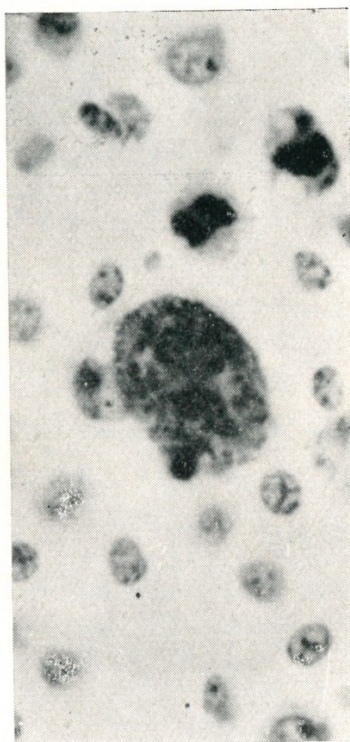


FIG. 3.

*Plasmodium gallinaceum*: Midollo osseo - Sviluppo del plasmodio nel citoplasma dei macrofagi.

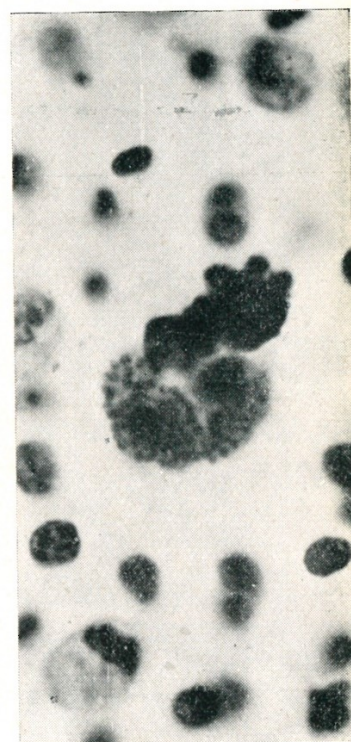


FIG. 4.

di *P. elongatum* gentilmente inviato dal dr. Coggeshall del Rockefeller Institute for Medical Research di New-York.

Dodici canarini infettati con questo ceppo di *P. elongatum* e morti 6-27 giorni dopo la inoculazione sono stati utilizzati per le presenti ricerche.

I canarini studiati sono stati tutti infettati mediante inoculazione di sangue e si è lasciato che l'infezione avesse il suo decorso normale fino alla morte degli animali. Durante l'intero periodo di infezione si eseguiva giornalmente la ricerca dei parassiti nel sangue periferico.

Di ciascun canarino sono stati eseguiti preparati di fegato, milza e midollo osseo. La tecnica usata è stata la seguente: i preparati a striscio o per impressione venivano fissati allo stato umido in liquido di Carnoy e colorati col metodo di Romanowsky seguito da differenziazione in acetone e montaggio in balsamo.

#### RISULTATI DEGLI ESPERIMENTI.

Il decorso dell'infezione in ciascuno dei 12 canarini studiati viene riassunto nella tabella annessa. Dall'esame dei dati si osserva che la morte ha colpito i diversi animali dopo un'infezione di durata notevolmente variabile entro i limiti estremi di 1 e 20 giorni.

Lo studio degli organi ematopoietici e specialmente del midollo osseo ha dimostrato i noti reperti relativi a uno sviluppo dei parassiti nelle cellule ematiche ed ematopoietiche.

Ma il reperto che appariva di maggiore importanza era costituito dai macrofagi, nel cui citoplasma si rinvenivano numerosi elementi eterogenei. Anzitutto era presente pigmento sia in fini granuli giallo-bruni che in grosse masse di color nero intenso. Si trovavano inoltre inclusi parassiti in ogni stadio di sviluppo, alcuni dei quali ancora ben conservati, altri con più o meno evidenti segni di degenerazione. Era possibile infine rinvenire inglobati nel citoplasma interi eritrociti ed eritroblasti parassitati e non parassitati e masse globuliformi di varia grandezza di una sostanza simile in apparenza all'emoglobina.

La costanza di tale reperto in parecchie centinaia di macrofagi osservati rende legittima l'affermazione che queste cellule, nei suddetti stadi dell'infezione da *P. elongatum*, esplicano attivamente la loro funzione fa-

gocitaria sui parassiti e sul pigmento. Rispetto ai parassiti il comportamento dei macrofagi nel *P. elongatum* appare simile a quello osservabile nei plasmodi umani: la sola differenza è data dal fatto che molti dei parassiti fagocitati appaiono apigmentati poichè il loro precedente sviluppo, per la particolare biologia del *P. elongatum*, era avvenuto in cellule ematopoietiche prive di emoglobina.

Nei vari canarini studiati si notavano alcune differenze di grado e di intensità nel processo di fagocitosi. In alcuni si poteva osservare un enorme aumento di numero dei macrofagi e un'intensa attività fagocitaria, mentre in altri, specie in quelli nei quali l'infezione era stata molto prolungata, si poteva osservare un numero di macrofagi minore e un'attività fagocitaria ridotta.

Tali fenomeni appaiono in accordo col quadro generale della fagocitosi negli stadi terminali delle infezioni mortali, nei quali si osserva comunemente un rallentamento della attività fagocitaria; tale rallentamento viene interpretato come dovuto in parte alla degenerazione di un gran numero di macrofagi e in parte alla incapacità dell'ospite di rimpiazzarli con una produzione sufficientemente rapida di nuovi macrofagi. Un'intensa fagocitosi può essere pertanto più facilmente sorpresa nei casi in cui la morte avviene dopo un'infezione a decorso rapido.

Inoltre è stata osservata l'esistenza di una straordinaria quantità di macrofagi nel midollo osseo. Tale fenomeno è probabilmente da mettersi in rapporto con la particolare biologia del *P. elongatum*, per la quale un enorme sviluppo di parassiti si verifica in questo tessuto.

Il dato di maggiore importanza emerso dalle presenti ricerche è costituito dal fatto che le numerose osservazioni eseguite hanno dimostrato la costante assenza di forme di sviluppo progressivo del *P. elongatum* a spese del citoplasma dei macrofagi. Il reperto di una attività fagocitaria è stato l'unico quadro osservabile nei macrofagi sia nei canarini morti dopo pochi giorni di infezione che in quelli morti dopo 20 giorni di continua positività nel sangue periferico. In tutto questo periodo non si osserva mai nel *P. elongatum* una moltiplicazione schizogonica del parassita che invada l'intero citoplasma del macrofago, come avviene invece comunemente nel ciclo esocitocitico del *P. gallinaceum*.

Altamente illustrativo appare infatti il confronto tra i reperti osservabili nel midollo osseo di un canarino infetto da *P. elongatum* e quelli



presenti nel midollo osseo di un pollo infetto da *P. gallinaceum* con fasi esoeritrocitiche. Nel *P. elongatum* si osservano parassiti nelle varie fasi di sviluppo in tutte le cellule ematopoietiche, mentre i macrofagi appaiono in attiva fagocitosi: nel *P. gallinaceum* al contrario si osserva sviluppo progressivo esoeritrocitico del parassita nei soli macrofagi, mentre tutte le cellule ematopoietiche restano indenni.

Da quanto si è esposto si deve finalmente dedurre che è da scartare con certezza l'ipotesi di uno *sviluppo progressivo* del *P. elongatum* a spese del citoplasma dei macrofagi (\*). Di conseguenza risulta evidente che in questo plasmodio è dimostrabile soltanto un ciclo schizogonico che si svolge nelle cellule ematiche ed ematopoietiche e non esiste alcun ciclo di sviluppo in cellule dell'apparato reticolo endoteliale.

#### RIASSUNTO

Nelle infezioni da *P. elongatum* la presenza di parassiti nei macrofagi è dovuta all'intensa fagocitosi esplicita da questi elementi. Nel citoplasma dei macrofagi il parassita non va incontro ad alcuno sviluppo progressivo. Non esiste pertanto in questo plasmodio alcun ciclo di sviluppo in cellule dell'apparato reticolo endoteliale, ma al contrario il ciclo schizogonico è limitato alle cellule ematiche ed ematopoietiche.

#### SUMMARIUM

Quotiens infectiones oriuntur, quas gignit *Plasmodium elongatum*, propterea in macrophagis adsunt parassiti, quod ingens phagocytosis est, quam haec explicant elementa. Macrophagorum vero in cytoplasmate nullum existit parassiti progrediens evolutio. Ex quo arguitur nullum istius

---

(\*) Non si può invece da un punto di vista strettamente scientifico escludere la possibilità di una *sopravvivenza* dei parassiti inglobati, nel caso che il macrofago soccomba durante il processo di fagocitosi. In tal senso non può considerarsi ancora dimostrata la non attendibilità della supposizione di Golgi (5) circa la possibilità che i parassiti delle febbri estivo-autunnali inglobati dai macrofagi non sieno necessariamente destinati ad esser distrutti.

plasmodii cyclum evolutiour fieri in cellulis ad apparatus reticulo-endotelialem pertinentibus, cum contra cyclus schizogonicus non nisi in cellulis haematicis et haemopoeticis inveniatur.

Roma. — Istituto di Sanità Pubblica - Laboratorio di Malariologia.

#### BIBLIOGRAFIA

(<sup>1</sup>) CORRADETTI A., « Una nuova classificazione degli *Haemosporidiidea* basata sull'esistenza di un ciclo schizogonico dei plasmodi nelle cellule dei tessuti », Rend. R. Acc. Naz. Lincei, Classe Sc. Fis. Mat. Nat., 27, 1, 31 (1938).

(<sup>2</sup>) CORRADETTI A., « Osservazioni sul ciclo schizogonico dei plasmodi nelle cellule dei tessuti e proposta di una nuova classificazione degli *Haemosporidiidea* », Riv. Parass., 2, 1, 23 (1938).

(<sup>3</sup>) CORRADETTI A., « Sullo sviluppo dei parassiti malarici. Discussione con L. Verney », Riv. Malar., 17 (sez. II), 1-4 bis, 3; 5-6 bis, 363 (1938); 18 (sez. II), 1-4 bis, 149 (1939).

(<sup>4</sup>) CORRADETTI A., « Il significato del ciclo esoeritrocitico dei plasmodi », questi Rendiconti, 3, 467 (1940).

(<sup>5</sup>) GOLGI C., « Sulle febbri estivo-autunnali di Roma », Gazz. Med. di Pavia, nov. dic. (1893). Ristampato in: « Gli studi di Camillo Golgi sulla Malaria », Roma, Pozzi, 1929.

(<sup>6</sup>) HUFF C. C. & BLOOM W., « A malarial parasite infecting all blood and blood forming cells of birds », Journ. of Inf. Dis., 57, 315 (1935).