

40. Oreste ZARDI (*). — L'accentuata fibrinolisi e fibrinogenolisi possono trovare una concausa patogenetica nei fenomeni immunitari dell'organismo.

Riassunto. — L'A. prendendo in esame il fibrinogeno, la fibrinolisi e la fibrinogenolisi in animali sottoposti ad inoculazione di sostanze antigeni, rileva l'accentuata fibrinogenopoiesi e fibrinogenolisi in tutti gli animali presi in osservazione. Senza trarre impegnative conclusioni sul fenomeno, ritiene degna di ulteriore sviluppo la ricerca.

Résumé. — L'auteur examine le fibrinogène, la fibrinolyse et la fibrinogenolyse chez des animaux soumis à injections de substances antigènes et note l'accentuation de la fibrinogenopoïèse et de la fibrinogenolyse chez tous les animaux observés. Sans vouloir tirer des conclusions à propos de ce phénomène, il juge cependant qu'il est digne d'une recherche plus profonde.

Summary. — A series of animals was subjected to inoculation with antigenic substances and examined for fibrinogens, fibrinolysis, and fibrinogenolysis. Stress is laid on the marked fibrinogenopoiesis and fibrinogenolysis observed in all the animals examined. No definitive conclusions are drawn on the phenomenon, but it seems to call for further investigation.

Zusammenfassung. — Der Verfasser prüft das Fibrinogen, die Fibrinolyse und die Fibrinogenolyse bei Tieren, denen Antigen-Substanzen eingeimpft wurden, und stellt bei allen beobachteten Tieren eine betonte Fibrinogenopoiese und Fibrinogenolyse fest. Ohne verbindliche Schlüsse zu ziehen, ist der Verfasser der Ansicht, dass die Forschung auf diesem Gebiet weiter zu führen ist.

L'introduzione di sostanze antigeni per via parenterale provoca nel sangue la comparsa di proprietà antagoniste dovute ad una speciale modificazione delle globuline plasmatiche che, così trasformate, divengono capaci di legarsi con esaltata avidità e specificità con l'antigene formando l'anticorpo.

(*) Ospite.

La sede di formazione delle globuline-anticorpo è rappresentata, secondo diversi AA., fra cui VERNONI G. ⁽¹⁾ e MARRACK J. R. ⁽²⁾, da elementi del sistema reticolo istiocitario.

Nonostante le numerose divergenze iniziali sulla genesi del fibrinogeno, attualmente si ritiene che esso, analogamente alle altre proteine plasmatiche, trovi la sua origine oltre che nel fegato (DOYON, MOREL e KAREFF; BIGGS e MACFARLANE etc.), nel sistema delle cellule di tipo istiocitario (MORAWITZ e REHEN; MULLER etc.) in considerazione della indubbia partecipazione splenica, anticamente sostenuta da BORTAZZI, ATZENO-TEDESCO etc. ed ultimamente confermata da RUSSO con la splenectomia in soggetti normali, e per il differente quantitativo in fibrinogeno del sangue midollare rispetto a quello periferico (vedi in POLI).

L'affinità genetica del fibrinogeno e della globulina-anticorpo ha spinto a studiare il comportamento della fibrinogenopoiesi e dei fenomeni litici plasmatici per il fibrinogeno e per la fibrina in animali sottoposti preventivamente ad inoculazione di determinate sostanze antigeni.

A tale scopo ho preso 12 conigli sani, dal peso di 2 chili ciascuno.

Di ognuno ho determinato per tre giorni consecutivi il tasso fibrinogenemico per accertare che non subisse oscillazioni dipendenti dal prelievo, tali comunque da non falsare i dati che mi proponevo di prendere in esame.

Ho constatato che il tasso fibrinogenemico rimane pressochè stazionario nei diversi successivi prelievi di sangue e che per di più nel coniglio normale non è dato osservare alcun fenomeno litico per il fibrinogeno e per la fibrina nè alla ventiquattresima nè alla quarantottesima ora dopo il prelievo.

Il dosaggio del fibrinogeno e la ricerca dei fenomeni litici sono stati eseguiti secondo la seguente tecnica.

Si prelevano con siringa sterilizzata a secco 9 cm³ di sangue che vengono posti in provetta sterile contenente 1 cm³ di ossalato di K all'1,66 per cento.

Si centrifuga per circa 10' a velocità media di 1500 giri; a 2 cm³ di plasma vengono aggiunti in altra provetta sterile 2 cm³ di calcio cloruro allo 0,25%, quindi si tappa la provetta e si tiene in termostato a 37°C fino alla comparsa del coagulo. Il coagulo spremuto con bacchetta di vetro si lascia per 24 ore in acqua distillata a temperatura ambiente, procedendo poi come sotto.

Per determinare la fibrinolisi si mettono in tre provette da sierologia 2 cm³ di plasma, aggiungendovi altrettanto calcio cloruro; il coa-

gulo di fibrina così formatosi viene lasciato in contatto col proprio siero per 24-28 ore di termostato e quindi pesato. La presenza di enzima litico per la fibrina viene dimostrata dalla progressiva diminuzione di peso, fino anche alla scomparsa completa del coagulo di fibrina.

Per saggiare la fibrinogenolisi, in altre tre provette tappate e sterili, i soliti 2 cm³ di plasma vengono tenuti in termostato a 37° C e poi ricalcificati alla ventiquattresima e quarantottesima ora. Appena formati, i rispettivi coaguli vengono spremuti, come al solito, con bacchetta di vetro e quindi pesati.

Anche qui la diminuzione di peso sta ad indicare l'esistenza di un processo fibrinogenolitico.

In tutte queste prove il coagulo di fibrina, dopo essere stato per 24 ore in acqua distillata, viene messo in alcool a 70° per altre 24 ore, quindi in etere per 12 ore ed infine in termostato a 100°C per un paio di ore, per essere subito dopo pesato con bilancia di precisione. Il valore trovato per il computo definitivo viene riportato a 100, tenendo conto della iniziale diluizione del sangue di 9/10.

Dei 12 animali prescelti, 4 vennero inoculati sottocute con 2 cm³ di vaccino antidermotifico T 25 (*), 4 con 2 cm³ di vaccino antinfluenzale (serie 3, tipo A₁) (*) e 4 con vaccino antileptospirosi, ceppo *Bataviae* (*).

A tutti gli animali venne presa quotidianamente la temperatura, sempre alla stessa ora. Essa non ha subito variazioni apprezzabili per i primi giorni ma solo un lieve aumento nella seconda settimana dopo la vaccinazione.

I prelievi di sangue, eseguiti dal cuore, sono stati fatti in decima, ventesima e trentesima giornata dopo l'inoculazione del vaccino.

Il tasso fibrinogenemico nei conigli sottoposti a vaccinazione antidermotifica è stato il seguente:

N. Con.	F. (1) norm.	F. 10° giorn.	F. 20° giorn.	F. 30° giorn.
1	5,10	5,32	6,50	5,50
2	5,15	5,70	6,40	5,80
3	5,30	6,50	6,80	6,60
4	5,30	6,20	6,70	6,50

(1) = fibrinogeno in g/1000.

(*) I vaccini sono stati preparati nel Laboratorio di Microbiologia dell'Istituto Superiore di Sanità.

Gli enzimi litici per la fibrina o per il fibrinogeno vengono espressi rispettivamente con 1-2-3 o 4 +, a seconda della loro intensità:

10 ^o giorno					20 ^o giorno				30 ^o giorno			
N. Con.	Fl ₂₄ (2)	Fl ₄₃	Fgl ₂₄ (3)	Fgl ₄₃	Fl ₂₄	Fl ₄₃	Fgl ₂₄	Fgl ₄₃	Fl ₂₄	Fl ₄₃	Fgl ₂₄	Fgl ₄₃
1	—	—	+	+++	+	+	++	++	—	—	—	++
2	+	+	+	+	—	—	++	++++	—	—	—	++++
3	—	+	+	+	—	—	+	++++	—	—	—	++++
4	—	—	+	++	—	—	+	+++	—	—	—	+++

(2) = fibrinolisi dopo 24 o 48 ore dal prelievo di sangue; (3) = fibrinogenolisi dopo 24 o 48 ore dal prelievo di sangue.

Il tasso fibrinogenemico nei conigli sottoposti ad inoculazione di vaccino antinfluenzale è stato il seguente:

N. Con.	F. norm.	F. 10° giorno	F. 20° giorno	F. 30° giorno
1	5,25	6,82	7,25	4,63
2	5,20	7,50	10,56	5,60
3	5,17	7,48	7,70	4,95
4	5,05	6,95	7,54	5,25

L'azione litica per la fibrina e per il fibrinogeno ha dato invece i seguenti risultati:

10° giorno					20° giorno				30° giorno			
N. Con.	Fl ₂₄	Fl ₄₈	Fgl ₂₄	Fgl ₄₈	Fl ₂₄	Fl ₄₈	Fgl ₂₄	Fgl ₄₈	Fl ₂₄	Fl ₄₈	Fgl ₂₄	Fgl ₄₈
1	—	—	++	++	—	++	++	++++	—	—	—	++++
2	—	—	—	++	—	—	+	++++	—	—	+	+++
3	+	+	+++	++++	—	—	+	++++	—	—	—	+
4	—	—	++	++++	—	—	++	++++	—	—	—	++

Il tasso fibrinogenemico nei conigli sottoposti ad inoculazione di vaccino antileptospirosi si è comportato nel modo seguente:

N. Con.	F. norm.	F. 30° giorno	F. 20° giorno	F. 10° giorno
1	5,05	6,35	6,70	6,30
2	5,16	6,68	7,00	6,15
3	5,25	5,98	6,65	6,30
4	5,30	6,12	6,49	6,00

L'attività litica per la fibrina e per il fibrinogeno si è comportata invece nel modo seguente:

10° giorno					20° giorno				30° giorno			
N. Con.	Fl ₂₄	Fl ₄₈	Fgl ₂₄	Fgl ₄₈	Fl ₂₄	Fl ₄₈	Fgl ₂₄	Fgl ₄₈	Fl ₂₄	Fl ₄₈	Fgl ₂₄	Fgl ₄₈
1	—	—	+	++	—	+	++	+++	—	—	++	++++
2	—	—	++	+++	—	—	+	++++	—	—	++	++++
3	—	+	++	++++	—	—	—	++++	—	+	+	++++
4	—	—	+	+++	—	—	++	++++	—	+	++	++++

Ho eseguito in decima, ventesima e trentesima giornata di vaccinazione la deviazione del complemento sui sieri dei conigli inoculati col vaccino antidermotifico; i rispettivi risultati sono stati i seguenti:

N. Con.	10° giorno	20° giorno	30° giorno
1	1/8 +	1/32 +	1/64 +
2	1/8 +	1/16 +	1/16 +
3	1/4 +	1/16 +	1/16 +
4	1/8 +	1/16 ±	1/16 +

La prova di inibizione dell'emoagglutinazione di HIRST sui sieri dei conigli inoculati con il vaccino antinfluenzale ha dato i seguenti risultati:

N. Con.	10° giorno	20° giorno	30° giorno
1	1/160 +	1/640 +	1/640 +
2	1/160 +	1/320 +	1/640 +
3	1/160 +	1/320 +	1/640 +
4	1/160 +	1/640 +	1/640 +

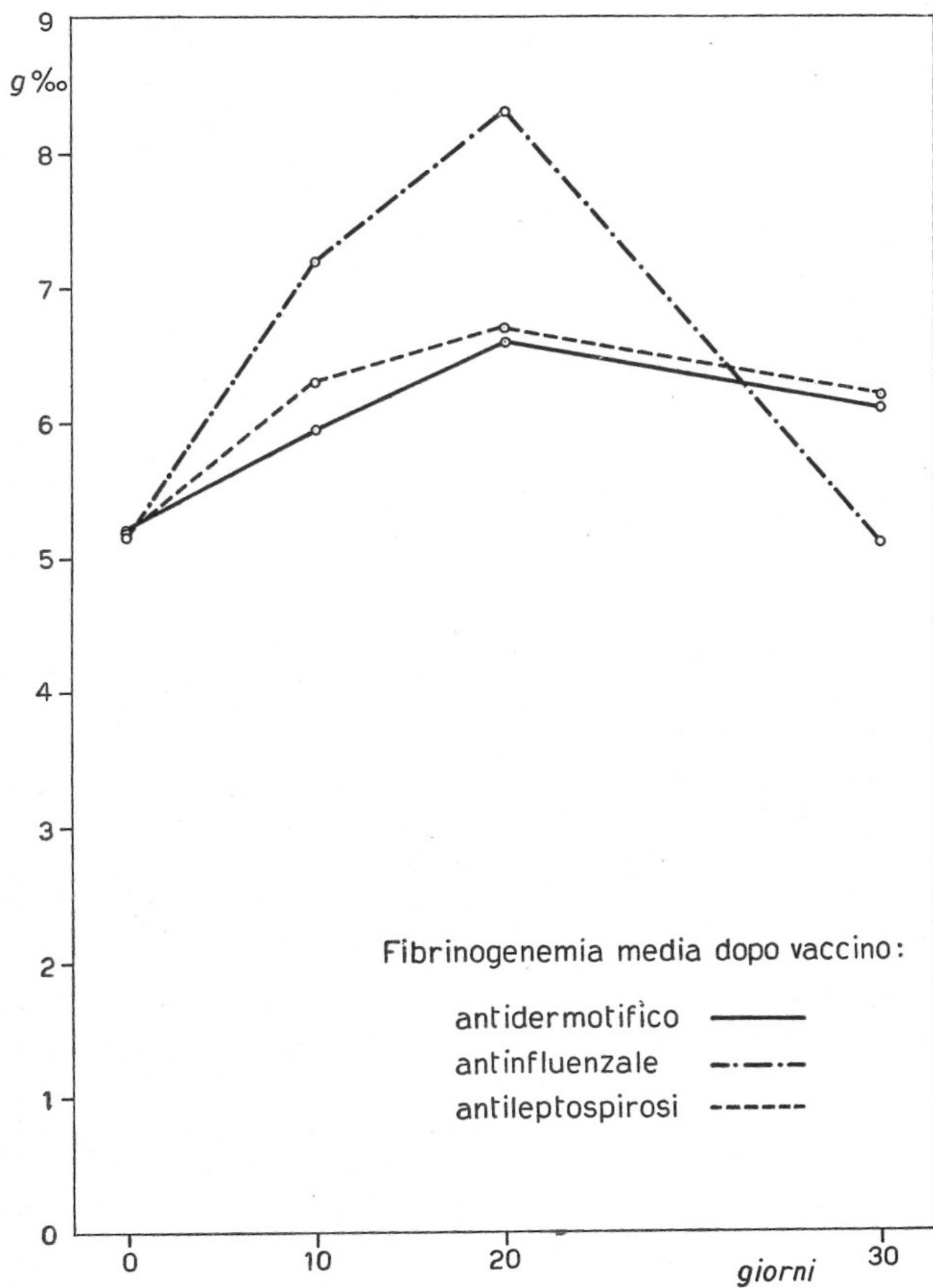


Fig. 1. - Curva fibrinogenemica in conigli trattati con sostanze antigeni.

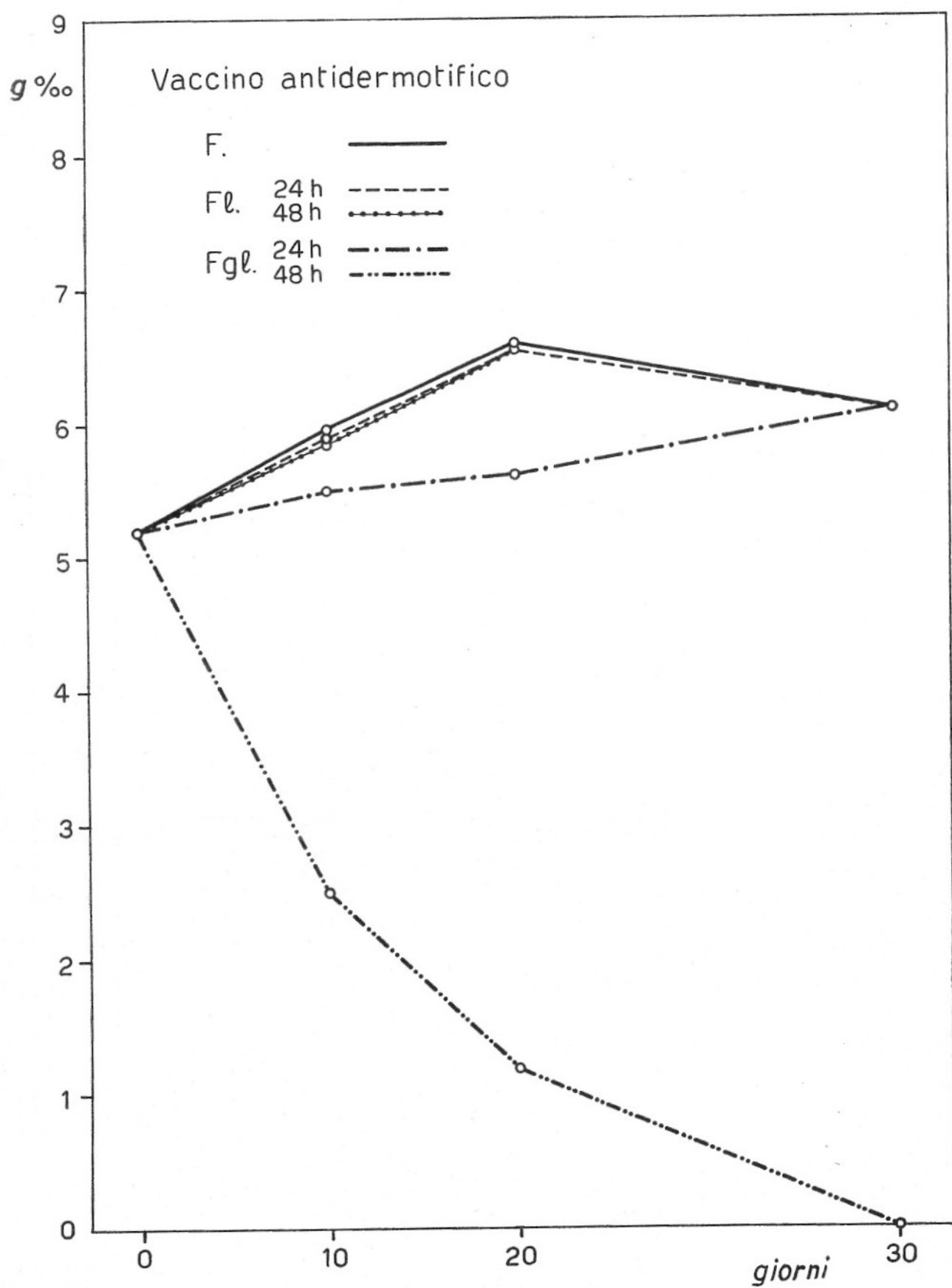


Fig. 2.

Curva fibrinolitica e fibrinogenolitica in conigli trattati con vaccino antidermotifico.

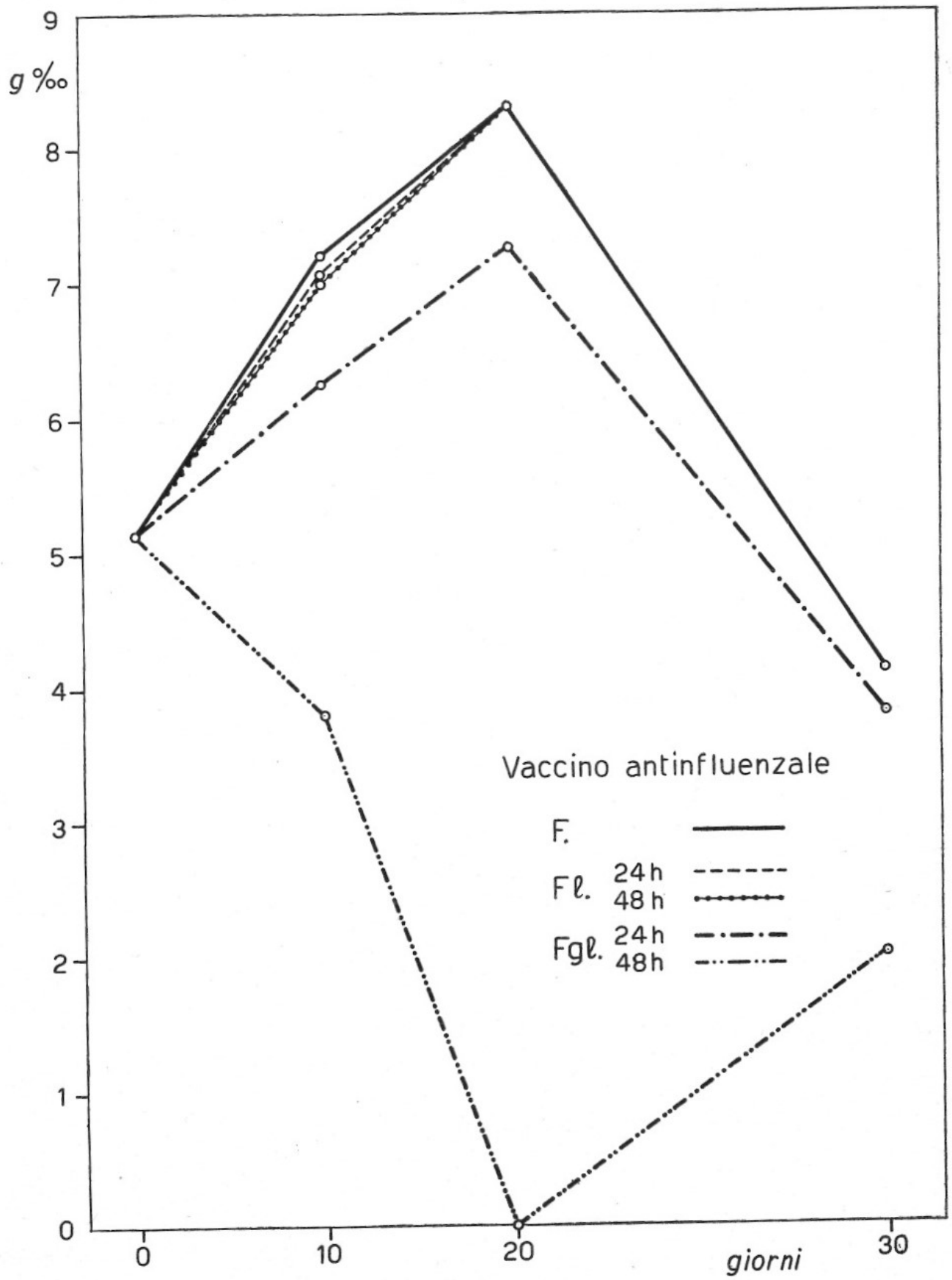


Fig. 3.
Curva fibrinolitica e fibrinogenolitica in conigli trattati con vaccino antinfluenzale.

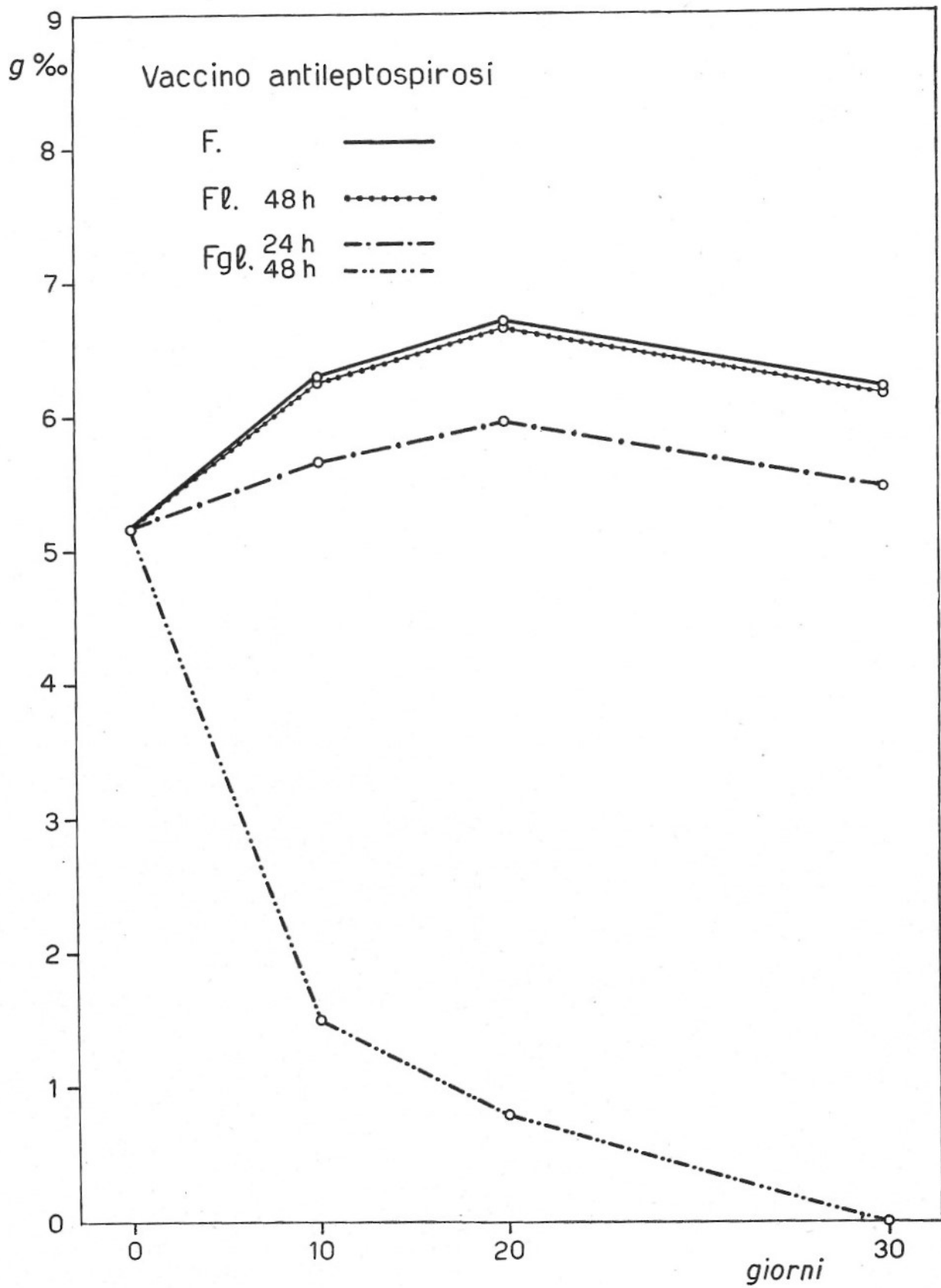


Fig. 4.

Curva fibrinolitica e fibrinogenolitica in conigli trattati con vaccino antileptospirosi.

La agglutinazione dei sieri di conigli inoculati con vaccino antileptospirosi ha dato i seguenti risultati:

N. Con.	10 ^o giorno	20 ^o giorno	30 ^o giorno
1	1/500 +	1/1000 +	1/1000 +
2	1/1000 +	1/1000 +	1/10000 +
3	1/1000 +	1/5000 +	1/5000 +
4	1/1000 ±	1/1000 +	1/1000 +

Dall'esame dei dati sperimentali si rileva che la fibrinogenemia va in progressivo aumento in tutti gli animali sottoposti ad inoculazione di sostanze antigeni almeno nei primi venti giorni dopo la vaccinazione; in trentesima giornata la fibrinogenemia diminuisce in tutti gli animali ed in particolare in quelli inoculati col vaccino antinfluenzale nei quali scende anche al disotto del tasso normale.

In nessun gruppo di conigli si è notata una attività litica per la fibrina: si è notato qualche sporadica traccia fibrinolitica venti giorni dopo l'inoculazione della sostanza antigene in soli tre conigli.

In tutti i gruppi di animali si è avuta invece una nettissima attività litica per il fibrinogeno fin dalle prime ventiquattro ore dopo il prelievo per culminare in parecchi casi (sette su dodici) in una completa fibrinogenolisi tredici giorni dopo l'inoculazione, (infatti in decima giornata, solo tre conigli hanno presentato una completa fibrinogenolisi).

Simile fenomeno non accade nei conigli normali, come ho potuto constatare nei numerosi controlli. Solo in condizioni patologiche il processo fibrinolitico può accelerarsi a tal punto da portare alla distruzione tutta la fibrina disponibile entro persino poche ore o minuti o addirittura al momento stesso in cui essa precipita.

Si ritiene infatti che l'attività fibrinolitica del sangue sia dovuta all'entrata in azione di un enzima presente per la maggior parte allo stato di precursore inattivo nel siero, insieme agli inibitori specifici della forma attiva: il primo fa parte della frazione globulinica [euglobulinica secondo TAGNON et al. ⁽³⁾], i secondi della frazione albuminica.

La capacità attivante più frequentemente trae origine da tessuti lesi o malati (cito-fibrinochinasi secondo la denominazione di ASTRUP e PERMIN ⁽⁴⁾), ma è presente pure nel siero di sangue [LEWIS e FERGUSON ⁽⁵⁾] e nei filtrati di colture di streptococco emolitico (GARNER e TILLER ⁽⁶⁾ — streptochinasi) o di stafilococco aureo (LACK ⁽⁷⁾ — stafilochinasi), e forse,

a seconda della sua origine, agisce su di un proenzima diverso (s-profibrinolisinina ed f-profibrinolisinina di ASRTUP e PERMIN).

Naturalmente nell'organismo sano l'equilibrio viene mantenuto da fattori inibenti (di solito in eccesso) che bloccano l'azione chinastica (« antifibrinochinasi » di derivazione solo tessutale) e specialmente l'azione della fibrinolisinina (antifibrinolisinina), in assenza dei quali il sangue sarebbe perennemente incoagulabile essendo la fibrinolisinina circolante più che sufficiente per distruggere tutto il fibrinogeno dell'organismo in pochi minuti [MAC FARLANE e PILLING ⁽⁸⁾].

Ma il processo per cui si rende operante questo complesso sistema probabilmente non è unico: secondo MAC FARLANE e BIGGS ⁽⁹⁾ una abnorme attività litica del sangue compare o per diretta attivazione della fibrinolisinina (come si ha in vivo ad opera delle chinasi specifiche) o per distruzione dell'antifibrinolisinina (come si ottiene in vitro, ad es. con il cloriformio) o per separazione del complesso fibrinolisinina-antifibrinolisinina (come si verifica in seguito a diluizione del plasma), mentre più recenti ricerche di LEWIS e FERGUSON ⁽¹⁰⁾ tenderebbero ad attribuire ogni responsabilità alle varie fibrinochinasi.

Come ho avuto occasione di osservare altrove assieme a FERRARI ⁽¹¹⁾ anche in questi casi viene dimostrata la differente attaccabilità del fibrinogeno e della fibrina da parte dell'enzima litico.

Il trattamento con sostanze proteiche eterologhe avrebbe, negli animali da me studiati, provocato essenzialmente una disprotidemia dovuta all'ammissione in circolo di prodotti di autolisi del materiale introdotto per via parenterale [vedi anche POLI ⁽¹²⁾].

Tali modificazioni più o meno marcate della crasi proteica costituirebbero il quadro disprotido-iperglobulinemico, il più delle volte con iperprotidemia totale, che è l'espressione essenziale della protidoplasmapatia sperimentale reattiva che può manifestarsi anche sotto forma di abnorme attività litica per il fibrinogeno.

Importanti appaiono i rapporti fibrinogeno, fibrinogenolisi, fibrinolisi, e sostanze antigeni sulla base degli elementi venuti alla mia osservazione; sarebbe ancora azzardato trarre delle impegnative conclusioni poichè ogni presunzione al riguardo non può che costituire una ipotesi da utilizzare per ricerche future.

BIBLIOGRAFIA

- (1) VERNONI G. - Trattato di Patologia Generale, Vol. I, Ediz. 1934, pag. 507.
 - (2) MARRACK J. R. - Atti sesto Congresso Internazionale di Microbiologia, 2: 3, 1953.
 - (3) TAGNON H. I., - J. Labor. e Clin. Med, 27: 1119, 1942.
 - (4) ASTRUP T. e PERMIN P. M. - Nature (London), 159: 681, 1947.
 - (5) LEWIS J. H. e FERGUSON R. L. - Revue d'hematol., 7: 6, 1952.
 - (6) GARNER W. S. e TILLER R. L. - J. Exper. Med., 60: 239, 1934.
 - (7) LACK C. H. - Nature, 161: 559, 1948.
 - (8) MAC FARLANE R. G. e PILLING J. - Lancet, 2: 562, 1946.
 - (9) MAC FARLANE R. G. e BIGGS R. - Blood, 3: 1167, 1948.
 - (10) LEWIS J. H. e FERGUSON J. H. - Revue d'hematol., 7: 6, 1952.
 - (11) FERRARI M. e ZARDI O. - l'Ateneo Parmense, 24: 119, 1953.
 - (12) POLI E. - Fisiopatologia e Clinica del protidoplasma, Soc. Edit. Delfino, Milano 1951, pag. 484.
-