

26. SULLE ALTERAZIONI DEL SISTEMA RETICOLO ENDOTELIALE NELLE INFEZIONI DA PLASMODIUM GALLINACEUM.

In una nota precedente (¹) confermavo che negli stadi cronici delle infezioni da *P.gallinaceum* compaiono schizonti in via di sviluppo nelle cellule appartenenti al sistema reticolo-endoteliale.

Dalle ricerche allora in corso ritenevo presumibile che lo sviluppo di schizonti nelle cellule del sistema reticolo-endoteliale fosse un fenomeno accidentale consecutivo alla minorata funzione fagocitaria degli elementi del reticolo.

In questa nota vengono descritte le alterazioni del sistema reticolo-endoteliale dei polli infetti da *P.gallinaceum*, sacrificati in differenti periodi del decorso dell'infezione allo scopo di vedere se lo sviluppo del parassita in alcune cellule di detto sistema appartenga al ciclo normale del parassita.

MATERIALE E METODI D'INDAGINE.

Polli, di razza livornese, dell'età di 4-6 mesi venivano inoculati per via endomuscolare con un decimo di cmc. di sangue di un altro pollo ricco di forme eritrocitiche di *P.gallinaceum*. Il decorso dell'infezione veniva seguito ogni giorno con l'esame del sangue e si aveva cura di procedere all'autopsia immediatamente dopo la morte dell'animale per evitare alterazioni istologiche post-mortali. Alcuni polli vennero sacrificati nello stato agonico.

Allo scopo di avere elementi per trarre un giudizio esatto, ho sacrificato due polli per studiare il sistema reticolo-endoteliale normale.

Ho suddiviso i polli infetti da *P.gallinaceum* da cui ho prelevato il materiale per l'esame istologico nei 4 gruppi seguenti, comprendenti almeno 3-4 polli per ciascun gruppo:

Gruppo A: Polli morti nella fase acuta dell'infezione, entro due settimane dall'inoculazione, ricchi di parassiti pigmentati in circolo;

Gruppo B: Polli cronici con rare forme pigmentate nel sangue periferico e negli organi interni, morti dopo 5 settimane dall'inoculazione;

Gruppo C: Polli splenectomizzati: *a)* prima dell'inoculazione con *P.gallinaceum* e morti in fase acuta; *b)* splenectomizzati dopo l'inoculazione del periodo cronico dell'infezione;

Gruppo D: Polli morti con schizonti apigmentati nelle cellule endoteliali: *a)* morti fra la terza e la quarta settimana dall'inoculazione, senza trattamento, durante la fase acuta caratterizzata dalla presenza di numerosi parassiti pigmentati nel sangue periferico; *b)* polli trattati con chinina durante la fase acuta dall'inizio della comparsa di parassiti pigmentati.

Abbiamo preso in considerazione sopra tutto le alterazioni del sistema reticolo-endoteliale del fegato, della milza, del rene, del polmone, e del cervello. I pezzi anatomici venivano fissati in formalina, in liquido di Schaudium ed in alcool. Come di consueto ci servimmo di pezzi fissati, in formalina per le sezioni col microtomo congelato per lo studio della degenerazione grassa dei parenchimi.

Contemporaneamente si eseguivano preparati per striscio dei vari organi che venivano colorati col metodo Giemsa.

REPERTI ISTO-PATOLOGICI.

Gruppo A) Polli morti nella fase acuta dell'infezione. — Nel cervello non esistono alterazioni apprezzabili e riesce negativa la ricerca di schizonti apigmentati nelle cellule endoteliali dei capillari.

In questi polli si osservano, invece, profonde alterazioni del fegato. Si nota anzitutto la degenerazione grassa più o meno diffusa del parenchima epatico a seconda dell'intensità dell'infezione eritrocitica. Di solito la degenerazione grassa colpisce i gruppi cellulari in prossimità della vena centrale del lobulo. Si notano poi, numerosi infiltrati cellulari perivasali, costituiti da cellule rotondeggianti o poligonali, con scarso citoplasma e nucleo intensamente colorato che debbono interpretarsi come focolai di proliferazione istiocitaria.

Fra le travate delle cellule epatiche appaiono evidenti le cellule di Kupfer ripiene di pigmento. In alcuni punti si osservano piccole catene di cellule istiocitarie che abbiamo interpretato come cellule di Kupfer giovani di sostituzione. In complesso si osserva nel fegato il quadro di una intensa reazione delle cellule di sistema reticolo-endoteliale.

Nella milza si osserva un'enorme quantità di pigmento negli istiociti del reticolo in cui si notano spesso piccole inclusioni di grasso. I follicoli appaiono aumentati di volume. Non si notano lesioni evidenti a carico del polmone; si trovano di rado cellule pigmentifere nell'interno dei capillari.

Nel rene si osserva di regola infiltrati di piccole cellule istiocitarie in prossimità dell'ilo.

Di regola in tutti i polli esaminati di questo gruppo si osserva un rapporto fra la gravità dell'infezione, i fenomeni di degenerazione grassa del fegato e l'estensione degli infiltrati cellulari nel fegato e negli altri organi.

Gruppo B) *Polli cronici con rare forme pigmentate nel sangue periferico e negli organi interni; morti dopo 5 settimane dall'inoculazione.* — Nel fegato di questo gruppo di polli si osserva più pronunziata la degenerazione grassa del parenchima e numerosi focolai di proliferazione istiocitaria. Le cellule del Kupfer appaiono cariche di pigmento.

Nella milza, si osservano, come nel gruppo precedente, le cellule del reticolo piene di pigmento, mentre è assente nel tessuto follicolare.

Nel rene gli infiltrati cellulare che nel gruppo precedente erano localizzati alla zona dell'ilo, si osservano anche in prossimità della zona corticale.

Nel cervello e nel polmone non si osserva nulla di caratteristico.

Gruppo C) *Polli splenectomizzati: a) prima dell'inoculazione con P. gallinaceum e morti in fase acuta; b) splenectomizzati dopo l'inoculazione nel periodo cronico dell'infezione:*

a) Nel fegato di questo gruppo di polli si osserva scarsissimo pigmento, nelle cellule del Kupfer. Si riscontrano piccoli focolai di moltiplicazione istiocitaria che avevamo osservato anche nei polli normali. Anche

nella milza si osserva una quantità di pigmento sotto forma di piccoli granuli nel citoplasma delle cellule del reticolo.

Nel rene, cervello e pomone non si osserva nulla degno di essere descritto.

b) Polli splenectomizzati dopo l'inoculazione nel periodo cronico della infezione:

Nel fegato di questi polli si osserva una notevole degenerazione grassa del parenchima, sopra tutto in prossimità delle vene centrali. Le cellule del Kupfer appaiono ingrandite: molte non presentano pigmento ed altre ne contengono una scarsa quantità sotto forma di piccoli granuli. Si riscontra inoltre nelle cellule del Kupfer qualche inclusione di grasso che si colora in arancione col Sudan III. Si notano anche in questi polli piccoli focolai di moltiplicazione istiocitaria derivante dalla moltiplicazione delle cellule del Kupfer.

Nel rene, nel polmone e nel cervello non si notavano alterazioni apprezzabili.

Gruppo D) *Polli morti con schizonti apigmentati nelle cellule endoteliali*: a) morti fra la terza e la quarta settimana dall'inoculazione senza trattamento durante la fase acuta, caratterizzata dalla presenza di numerosi parassiti pigmentati nel sangue periferico; b) polli trattati con chinina durante la fase acuta dall'inizio della comparsa dei parassiti pigmentati.

Negli organi di questo gruppo di polli si riscontrano le stesse lesioni osservate nei polli morti con abbondante reperto di schizonti pigmentati nel sangue periferico. Si osserva la degenerazione grave di vaste aree del fegato le cellule del Kupfer ingrandite; ricche di pigmento con neoformazioni di giovani istiociti.

Invece nei polli trattati con chinina al primo apparire di schizonti pigmentati nel sangue periferico si osserva assenza della degenerazione grassa del parenchima epatico o localizzata a piccole aree, le cellule del Kupfer presentano scarso pigmento ed i piccoli focolai di moltiplicazione istiocitaria non superano quelli che si osservano nel fegato normale.

Nella milza si osservano numerose cellule istiocitarie pigmentifere e grandi cellule istiocitarie prive di pigmento. Anche nella milza non si osserva degenerazione grassa o è limitata ad area ristretta.



Fig. 1 - Fegato di pollo morto in fase acuta con schizonti pigmentati nel sangue periferico:

a) Infiltrati di cellule istiocitarie in prossimità dei vasi. b) Le cellule di Kupfer sono rigonfie, irregolari e piene di pigmento.

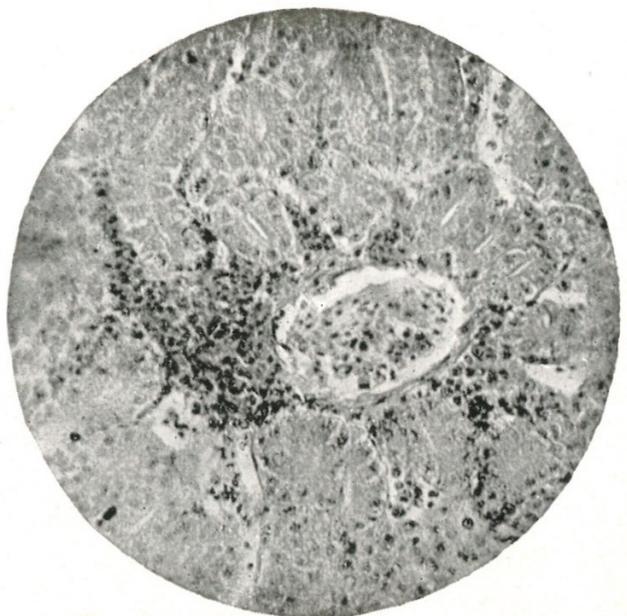


Fig. 2 - Rene di pollo morto nel periodo cronico con schizonti pigmentati nel sangue periferico:

a) In prossimità dell'ilo infiltrati di piccole cellule istiocitarie.

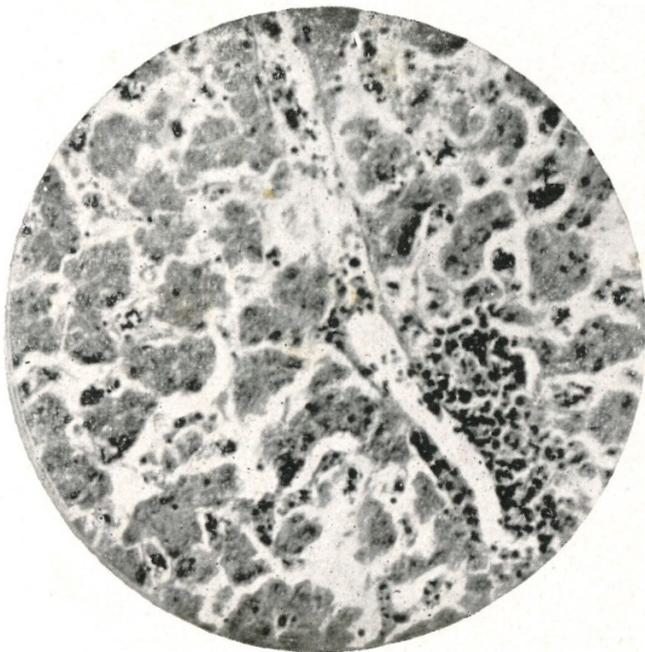


Fig. 3 - Fegato di pollo morto con parassiti exo-eritrocitici apigmentati in fase cronica, *senza nessun trattamento*:

a) Si osservano scarsi infiltrati di istiociti perivasali. b) Iperplasia delle cellule di Kupfer e presenza di pigmento.

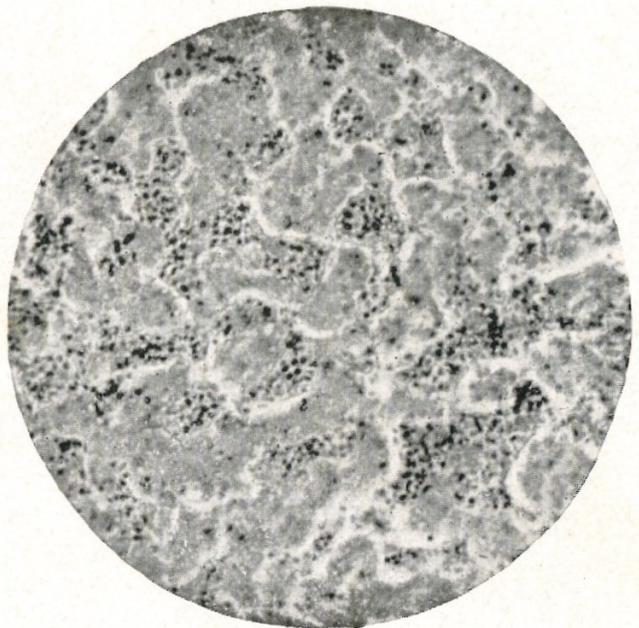


Fig. 4 - Fegato di pollo trattato con chinino morto in fase cronica con parassiti exo-eritrocitici:

a) Si osserva scarsissimo pigmento nelle cellule di Kupfer. b) Assenza di infiltrati perivasali. c) Sviluppo del tessuto interstiziale.

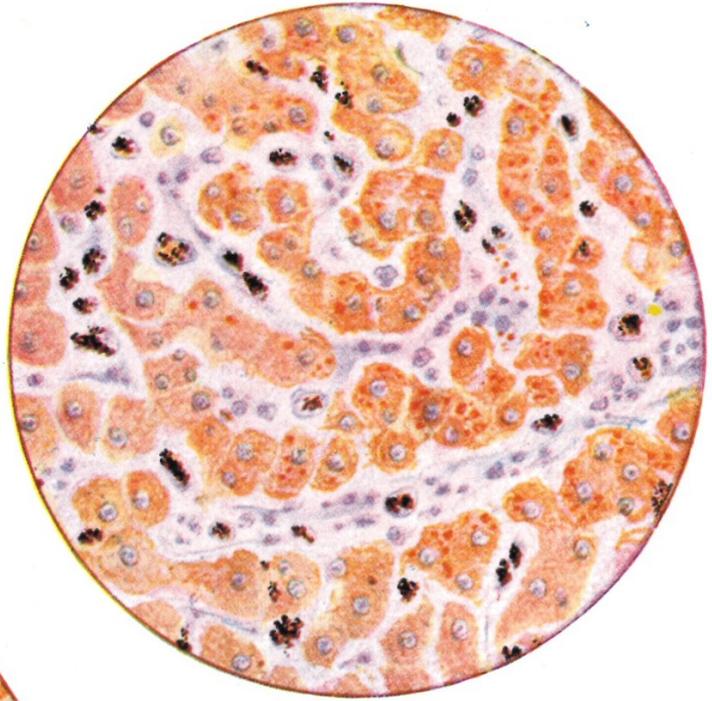


Fig. 1

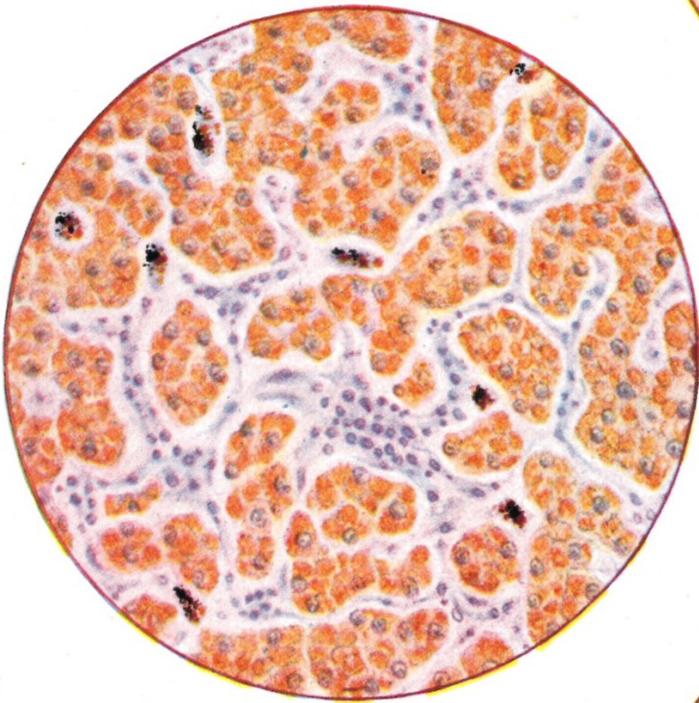


Fig. 2

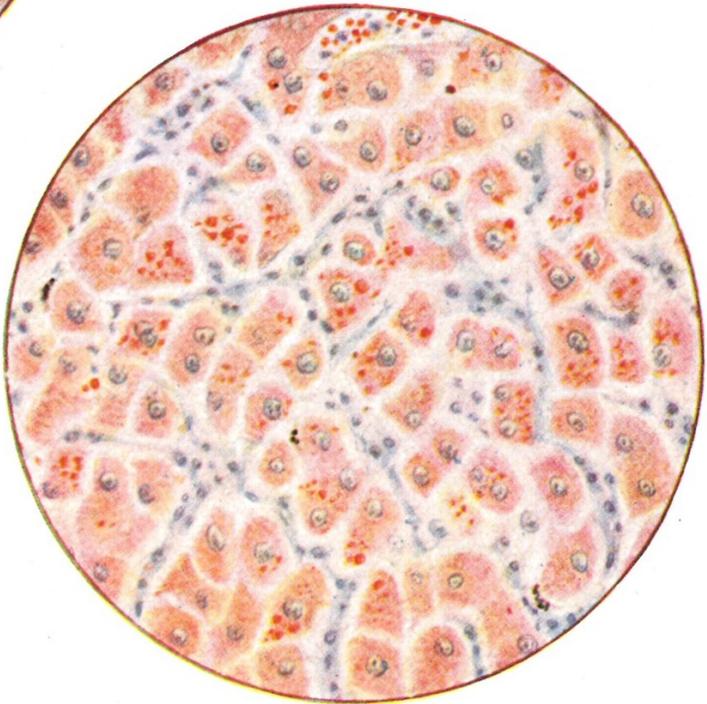


Fig. 3

0 50M 100M

A horizontal scale bar with three segments. The first segment is labeled '0', the second '50M', and the third '100M'. The segments are separated by vertical tick marks.

Nel cervello gli endoteli dei capillari appaiono alle volte distesi da un numero cospicuo di giovani parassiti.

Si deve però osservare che le cellule degli endoteli dei capillari appaiono alle volte rigonfi senza che io abbia potuto sorprendere nessun elemento fagocitato o segni evidenti degenerativi.

E' verosimile che, come avviene per la malaria dell'uomo, si abbiano alterazioni degli endoteli dei capillari cerebrali. Tali alterazioni, pur essendo meno evidenti nel cervello dei polli da noi esaminati di quanto si osservi nella malaria dell'uomo, possono però essere di tale natura da paralizzare l'attività fagocitante delle cellule stesse.

DISCUSSIONE.

Nei polli morti nella fase acuta dell'infezione con presenza di numerosi schizonti pigmentati, l'esame istio-patologico rivela un'energica stimolazione delle cellule del sistema reticolo-endoteliale. Le cellule del sistema reticolo-endoteliale, dopo aver fagocitato pigmento, parassiti e detriti di parassiti, si rigonfiano, si arrotondano, poi si distaccano e passano negli spazi sanguigni che prima rivestivano. Gli spazi vuoti lasciati da queste cellule vengono riempiti da cellule giovani che troviamo presenti in cospicua quantità nel primo gruppo di polli esaminati (caratteristica di queste giovani cellule è la loro scarsa attività fagocitante per cui le ritroviamo prive di pigmento e con pochi granuli).

Nella infezione da *P. gallinaceum* i fenomeni di iperplasia delle cellule del Kupfer e di proliferazione istiocitaria compaiono già nel periodo acuto, mentre nell'infezione acuta da *P. knowlesi* prevalgono i fenomeni di fagocitosi.

Nei polli cronici del gruppo *B* si accentuano notevolmente i fenomeni osservati nel periodo acuto, sopra tutto le neoformazioni cellulari di origine istiocitaria.

Caratteristico è il comportamento del sistema reticolo-endoteliale nei polli del gruppo *C* in cui fu praticata la splenectomia prima dell'inoculazione del *P. gallinaceum*; non si osserva degenerazione grassa del parenchima epatico e nessuna manifestazione di attività istiocitaria.

In questo caso la mancanza dei vasti distretti del sistema reticolo-endoteliale della milza a cui è affidata in gran parte la difesa dell'organismo sopra tutto nelle infezioni protozoarie, determinò una rapida moltiplicazione dei parassiti che cagionò la morte dell'ospite. Prima che entrassero in azione le difese del sistema reticolo-endoteliale residuo, che hanno la loro espressione nella iperplasia delle cellule del Kupfer e nella comparsa di infiltrati di giovani cellule di origine istiocitaria.

Di particolare interesse sono le alterazioni istologiche dei polli morti con schizonti exo-eritrocitici - Gruppo D). Nei polli morti con schizonti exo-eritrocitici senza trattamento con chinina, si riscontra una proliferazione delle cellule del sistema reticolo-endoteliale con neoformazioni di giovani istiociti non fagocitanti, mentre nei polli trattati con chinina non si osserva apprezzabile reazione del sistema reticol-endoteliale.

Come ho già riferito le cellule del sistema reticolo-endoteliale, dopo aver fagocitato pigmento, parassiti e detriti di globuli rossi e di parassiti, cadono in necrosi; gli spazi lasciati vuoti, lasciati liberi da queste cellule vengono riempiti rapidamente da cellule giovani, neoformate che debbono supplire la funzione di quelle danneggiate. Poichè nelle infezioni da *P. gallinaceum*, trattate precocemente con chinina, manca o si riduce notevolmente lo sviluppo eritrocitico del parassita, così manca la formazione di abbondante pigmento che sarebbe andato ad infarcire le cellule del sistema reticolo-endoteliale. Viene in tal modo a mancare uno degli elementi principali che determina la necrosi delle cellule fagocitanti e la stimolazione alla neoformazione di nuovi elementi istiocitari.

Manca, a sua volta, la degenerazione grassa del fegato che nelle infezioni acute è forse in dipendenza del blocco del sistema reticolo-endoteliale operato dalla grande quantità di pigmento che infarcisce tutte le cellule di questo sistema.

Ma il fatto più interessante è che nel cervello gli endoteli dei capillari appaiono spesso rigonfi anche quando non sono invasi da parassiti. Verrebbe quindi ad essere confermato quanto io avevo già supposto, cioè che lo sviluppo del *P. gallinaceum* nelle cellule endoteliali presume una diminuzione della loro attività fagocitante.

In questi casi a morte del pollo avviene per una diminuita funzione emoformatrice, per cui appare uno stato anemico che non è determinato dalla distruzione dei globuli rossi ma da una mancata formazione sanguigna.

CONCLUSIONI.

Considerando i risultati delle indagini che ho riassunto, si può concludere:

1) nelle infezioni acute da *P. gallinaceum* prevalgono i fenomeni fagocitari ed un notevole grado di proliferazione degli elementi del sistema reticolo-endoteliale. La morte del pollo avviene per la cospicua anemia consecutiva alla precoce distruzione dei globuli rossi;

2) nelle infezioni non trattate con chinina, croniche, con presenza di forme exo-eritrocitiche, si osserva la reazione del sistema reticolo-endoteliale che notammo nel periodo acuto dell'infezione da *P. gallinaceum*. L'anemia che si nota è dovuta più che alla distruzione dei globuli rossi — assai ridotta nello stadio cronico — alla diminuita funzione emoformatrice;

3) nei polli precocemente trattati con chinina durante il periodo acuto non si osserva un'apprezzabile reazione del sistema reticolo-endoteliale. Si ha un'anemia a tipo aplastico, cioè determinata da mancata formazione sanguigna;

4) lo sviluppo del *P. gallinaceum* nelle cellule del sistema reticolo-endoteliale non costituiscono un ciclo necessario alla vita del parassita, ma un fenomeno accidentale conseguente alla diminuita funzione fagocitaria degli elementi del reticolo.

RIASSUNTO

L'A. ha studiato le alterazioni del sistema reticolo-endoteliale nei polli infetti da *P. gallinaceum* e giunge alla conclusione che lo sviluppo del *P. gallinaceum* nelle cellule del sistema reticolo-endoteliale costituisce

un ritorno ancestrale consecutivo alla minorata funzione fagocitaria delle cellule endoteliali. Si tratterebbe quindi di un fenomeno accidentale che non costituisce un ciclo necessario alla vita del parassita.

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

BIBLIOGRAFIA

(¹) PANAIOTIS CHORTIS. - « Su alcuni stadi di sviluppo del *Plasmodium gallinaceum* Brumpt - Nota I », questi Rendiconti, 1, 532 (1938).

