

SU ALCUNI STUDI DI SVILUPPO DEL
PLASMODIUM GALLINACEUM BRUMPT. - Nota I.

Recentemente James e Tate (1937 e 1938) comunicavano di aver osservato nei polli (*Gallus gallus*) infetti da *P.gallinaceum* Brumpt, un ciclo schizogonico nelle cellule del sistema reticolo-endoteliale, oltre al ciclo schizogonico già descritto da Brumpt (1935) nei globuli rossi.

Considerando che il ciclo schizogonico si compie in varie cellule del sistema reticolo-endoteliale, James e Tate propongono per brevità di denominare exo-eritrocitici gli stadi di sviluppo del parassita che si riscontrano nelle cellule, qualunque sia la loro natura, che non siano riferibili ai globuli rossi.

Le caratteristiche principali dello sviluppo exo-eritrocitico è l'assenza del pigmento, poichè lo sviluppo si compie in cellule prive di emoglobina; inoltre gli schizonti presentano un numero maggiore di merozoiti degli schizonti che compiono il loro sviluppo negli eritrociti.

La possibilità che gli stadi di sviluppo exo-eritrocitico del *P.gallinaceum* siano stadi di sviluppo di un altro parassita non è considerata in questa nota, poichè altri si occupa di questa importante questione nel nostro laboratorio.

Le mie ricerche sono dirette a studiare: 1) le alterazioni del sistema reticolo-endoteliale dei polli infetti da *P. gallinaceum*, sacrificati in differenti periodi del decorso dell'infezione; 2) se lo sviluppo del parassita in alcune cellule del sistema reticolo-endoteliale appartenga al ciclo normale del parassita e non si tratti di un fenomeno accidentale che si verifica nelle cellule endoteliali alterate.

In questa nota riferisco sopra tutto i risultati della seconda serie di indagini. Renderò note prossimamente le osservazioni sulle alterazioni del sistema reticolo-endoteliale nell'infezione da *P.gallinaceum*.

Brumpt aveva posto la questione se le forme schizogoniche endoteliali del *P.gallinaceum* appartenessero al ciclo normale del parassita o se

si trattasse di fenomeni di istiotropismo accidentale, determinato per l'azione sfavorevole del sangue su alcuni merozoiti che, usciti dall'emazie, cercano un ricovero nelle cellule endoteliali.

« Effettivamente — scrive Brumpt — se si trattava di un processo normale, si sarebbe dovuto trovare un rapporto costante fra l'abbondanza di queste forme endoteliali ed il numero dei parassiti nelle emazie, come si verifica al momento delle infezioni acute da *Haemoproteus columbae* nel piccione, come hanno osservato tutti gli Autori dopo la scoperta di Beaurepaire Aragao (1908) e come è stato ugualmente osservato in casi di *Leucocytozoon* dell'oca (*L.anatis*) da O'Rocke, (1934), e da me (1936) su materiale non studiato, che mi era stato cortesemente fornito da detto Autore ⁽³⁾ ».

Invece, secondo quanto aveva già osservato Brumpt, la presenza di schizonti nelle cellule endoteliali nei polli infetti con *P.gallinaceum*, non è costante e non è in rapporto l'intensità dell'infezione sanguigna dei polli. A sua volta Kikuth ha notato il fatto che lo sviluppo di forme apigmentate nelle cellule endoteliali dei polli inoculati con *P.gallinaceum*, non è un fenomeno costante. L'A. ha ucciso più di venti polli che erano infettati parte con sangue e parte con sporozoiti e solo due volte ha potuto constatare lo sviluppo di schizonti apigmentati nelle cellule endoteliali. Brumpt malgrado le considerazioni esposte pensa che nel caso del *P.gallinaceum* il mancato reperto di schizonti nelle cellule endoteliali non escluda la loro presenza e che possa dipendere dal fatto che gli schizonti sono presenti in frammenti di organi non esaminati.

Nelle mie indagini non ho considerato la possibilità che lo sviluppo di forme schizogoniche nelle cellule del sistema reticolo-endoteliale possa essere in rapporto non con le proprietà del parassita — come presume Brumpt — ma bensì con le proprietà fisiologiche dei vari distretti cellulari che costituiscono il sistema reticolo-endoteliale o con alterazione di esse.

Per questo scopo ho studiato la presenza delle forme pigmentate e apigmentate che si riscontrano nei vari organi dei polli infettati con *P.gallinaceum*, sacrificati in diversi periodi dell'infezione, ed in polli soggetti a trattamenti diversi, diretti a danneggiare gli elementi del sistema reticolo-endoteliale. Il *P.gallinaceum* veniva trasmesso da pollo a pollo mediante iniezioni intramuscolari di sangue infetto.

I risultati di questa prima serie di indagini sono riassunti nella tabella che segue.

Nei polli n. 1, 2, 3, sacrificati quando nel sangue periferico si notava rispettivamente il 10, 50, 70 % di globuli rossi parassitati, non riuscimmo a scoprire nessuna forma schizogonica exo-eritrocitica. Il pollo n. 5 venne dapprima splenectomizzato allo scopo di diminuire la capacità difensiva dell'organismo e venne poscia inoculato con *P.gallinaceum*. Il pollo così trattato venne sacrificato 12 giorni dopo l'inoculazione, quando era possibile trovare nel sangue periferico l'85 % di globuli rossi parassitati. Non riscontrammo schizonti endocellulari (exo-eritrocitici) negli organi esaminati come risulta dalla tabella riportata; trovammo nei preparati ottenuti per striscio rari piccoli parassiti apigmentati nel fegato, polmone, reni e cervello, ma considerando la grandezza dei parassiti, assai ridotta, sorge il dubbio che si tratti di merozoiti non ancora pigmentati. Nel pollo n. 6 che morì spontaneamente 20 giorni dopo l'inoculazione presentando il 90 % dei globuli rossi parassitati, non riscontrammo forme schizogoniche apigmentate libere o endocellulari, exo-eritrocitiche, in tutti gli organi esaminati.

Poichè avevamo sperimentato su polli dell'età di 5-6 mesi, volemmo inoculare un pollo di circa un mese di età, presupponendo che la maggiore recettività avrebbe provocato più rapido e intenso sviluppo dei parassiti e l'invasione nelle cellule endoteliali. Come era stato preveduto l'infezione da *P. gallinaceum* si manifestò precoce ed intensa e, dopo undici giorni dall'inoculazione, il pollo morì presentando il 90 % di globuli rossi parassitati senza che fosse possibile riscontrare schizonti apigmentati nei vari distretti del sistema reticolo-endoteliale.

Osservammo invece numerosi schizonti liberi od endocellulari, exo-eritrocitici, nel fegato, polmoni, reni, milza e cervello del pollo N. 9 morto spontaneamente 32 giorni dopo l'inoculazione presentando rari globuli rossi parassitati nel sangue periferico.

Mosna, nel nostro laboratorio, allo scopo di studiare se l'invasione di schizonti nelle cellule endoteliali non fosse la conseguenza di alterazioni delle cellule del sistema retico-endoteliale, ricorse ad iniezioni endovenose di una soluzione di cuprocollargolo, secondo il metodo di Jancsó (⁴), il quale ha trovato che il rame elettro-colloidale, contenente il 0,06 % di rame, ha la proprietà, usato per via endovenosa, di paralizzare tutti gli

elementi del sistema reticolo-endoteliale, nella milza, fegato e midollo osseo, e a dosi appropriate, di distruggerli.

Questa azione del rame colloidale è stata dimostrata da Jancsó con ricerche morfologiche e funzionali nei topi, nei ratti e nelle cavie; in queste anche erano stati sufficienti 0,025 cc. di rame colloidale per paralizzare l'attività delle cellule di Kupfer. Nelle ricerche di questo Laboratorio eseguite sui polli, Mosna ha dovuto ricorrere ad una dose di 4 cc. per ottenere un uguale risultato.

POLLO N°	ETA' APPROSSIMAT.	DATA INOCULAZIONE	TRATTAMENTO SUCCESSIVO	COMPARSA PARASSITI	DATA MORTE SPONTANEA	DATA MORTE PROVOCATA	PARASSITI APIGMENTATI LIBERI							PARASSITI APIGMENTATI ENDOCEL- LULARI (exoeritrociti)							PERCENTUALE GLOBULI ROSSI PARASSITATI											
							SANGUE	FEGATO	POLMONI	RENI	MILZA	MID.OSS.	CERVEL.	SANGUE	FEGATO	POLMONI	RENI	MILZA	MID.OSS.	CERVEL.	SANGUE	FEGATO	POLMONI	RENI	MILZA	MID.OSS.	CERVEL.					
1	m.5	10-1		18-1		21-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	4	6	6	9	8	3	
2	m.5	19-1		28-1		4-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	50	67	57	60	55	10	40	
3	m.5	29-1		7-2		12-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	70	95	85	80	82	85	90	
4	m.6	19-1		30-1		14-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
5	m.5	12-2	Splenecto= mizzato 9-2	17-2		21-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	85	95	92	75	-	15	96	
6	m.5	19-1		30-1	9-2		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	90	96	94	50	95	90	95	
7	m.1	10-2		17-2	21-2		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	85	90	90	92	95	84	98	
8	m.5	9-2		18-2	10-3		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	
9	m.5	10-2		23-2	13-3		-	+	++	+	+	-	++	-	+	+	+	+	-	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
10	m.5	29-1	Splenecto= mizzato 2-3 Cuprocol.	8-2		17-3	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	-	+	30	25	28	25	-	10	15					
11	m.5	15-3	Cuproco- largo	23-3	26-3		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	53											
12	m.5	15-3	Cuproco- largo	23-3	29-3		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	26											

- Assenza di parassiti

± Rari parassiti

+ Pochi parassiti

++ Numerosi parassiti

Analizzando i risultati delle indagini eseguite sui polli n. 11 e 12 trattati con cuprocollargolo dal giorno della prima comparsa dei parassiti nel sangue periferico fino alla morte spontanea dei polli, si osserva che la lesione delle cellule del sistema reticolo-endoteliale non influisce sullo sviluppo d'ischizonti exo-eritrocitici.

Nel pollo n. 10, inoculato con *P. gallinaceum* il 29 gennaio, comparvero i primi parassiti nei globuli rossi dopo 10 giorni raggiungendo un massimo del 20 % di globuli rossi parassitati. Poi i parassiti diminuirono fino a scomparire dal sangue periferico. Il 2 marzo il pollo veniva splenectomizzato ed otto giorni dopo i globuli rossi parassitati salivano fino al 33 %; il 14 marzo incominciammo iniezioni quotidiane con 2 cc. di cuprocollargolo per tre giorni consecutivi e quindi il pollo venne sacrificato quando nel sangue periferico si notava ancora il 30 % di eritrociti parassitati. Esaminando in preparati per striscio gli organi di questo pollo, trovammo schizonti apigmentati liberi nel fegato, polmone, reni e cervello, e schizonti nelle cellule del sistema reticolo-endoteliale del fegato, polmoni, reni, milza e cervello.

Asportando la milza e paralizzando poscia l'attività delle cellule del sistema reticolo-endoteliale, si sarebbe ottenuta l'invasione di alcune cellule endoteliali degli organi studiati. Si deve però considerare che si tratta di un solo esperimento ed io non so quanto vi sia di accidentale in questo reperto.

Questa prima serie di indagini conferma che non vi è un rapporto fra l'intensità dell'infezione dei globuli rossi e quella delle cellule endoteliali: anzi nell'unico pollo morto spontaneamente che presentava forme schizogoniche endocellulari exo-eritrocitiche, si riscontrarono rari globuli rossi parassitati.

James e Tate riferiscono di aver osservato schizonti exo-eritrocitici nei polli trattati con chinina, che aveva liberato il sangue periferico dalla presenza di parassiti, ma noi abbiamo osservato la scomparsa dei parassiti dal sangue periferico e la presenza di forme exo-eritrocitiche indipendentemente dalla somministrazione di chinina.

E' nota l'importanza del sistema reticolo-endoteliale nella difesa dell'organismo e sopra tutto dell'apparato reticolo-endoteliale della milza, la cui funzione non può essere assunta da altri distretti del sistema reticolo-endoteliale. Come è noto Gondar e Rodenwaldt richiamarono l'attenzione sull'importanza della milza nella piroplasmosi dei cani; poscia numerosi ricercatori confermarono ciò e Cassuto (1936) nel nostro laboratorio dimostrò che le scimmie inoculate con *P. knowlesi*, che da lungo tempo non presentavano parassiti nel sangue periferico, soggiacevano ad una tumultuaria moltiplicazione di parassiti quando si toglieva loro la milza.

Come ho già riferito ho proceduto alla splenectomia di un pollo infetto con *P.gallinaceum* allo scopo di determinare un più intenso sviluppo del parassita e di osservare il comportamento degli altri distretti del sistema reticolo-endoteliale; ma nel pollo splenectomizzato non fu possibile riscontrare nessuna forma exoeritrocitica.

Invece nel pollo splenectomizzato e trattato con cuprocollargolo abbiamo osservato lo sviluppo di schizonti apigmentati nelle cellule endoteliali, però si tratta di un'osservazione sola che sarà ripetuta ed io esito a trarne conclusioni poichè ignoro quanto il caso abbia influito in questo reperto.

Osservando il fegato e la milza dei polli morti senza presentare forme exo-eritrocitiche, si nota che le cellule del Kupffer e le cellule del reticolo della milza sono infarcite di pigmento e di parassiti in via di degenerazione. Invece nel pollo n. 9, morto spontaneamente, che presentava numerosi schizonti negli endoteli dei capillari del cervello ed in varie cellule endoteliali della milza, del fegato dei polmoni e del rene, si trovano scarsi granuli di pigmento fagocitati. Ciò potrebbe essere in rapporto con la scarsa produzione di pigmento, essendo prevalente lo sviluppo exo-eritrocitico, ma potrebbe essere una conseguenza di modificazioni fisico-patologiche del sistema reticolo endoteliale.

Come è stato osservato anche da Cassuto nella malaria delle scimmie, le cellule reticolo-endoteliali dopo aver fagocitato detriti di parassiti e pigmento, cadono in necrosi; dapprima si rogonfiano, si arrotondano, poi si distaccano e passano negli spazi sanguigni, che prima rivestivano, col carico assorbito che, frattanto, appare più o meno alterato. Gli spazi vuoti lasciati da queste cellule vengono riempiti con grande rapidità da cellule giovani che debbono supplire alla funzione di quelle danneggiate, ma anche le cellule neoformate si infarciscono rapidamente di pigmento e di detriti di parassiti od a loro volta cadono in necrosi. All'iperplasia del sistema reticolo-endoteliale — che non raggiunge il suo scopo a cagione della continua distruzione dei suoi elementi — si accompagna una diminuita funzione emofomatrice per cui appare uno stato anemico che non è determinato da elementi tossici, ma da una mancata formazione sanguigna, si ha cioè un'anemia a tipo aplastico (Cassuto 1936).

E' in questo stadio dell'infezione da *P.gallinaceum* che compaiono di regola numerosi schizonti nelle cellule appartenenti al sistema reticolo-endoteliale e soprattutto negli endoteli dei capillari cerebrali.

E' quindi presumibile che lo sviluppo di parassiti nelle cellule del sistema reticolo-endoteliale sia un fenomeno accidentale conseguente ad una minorata funzione degli elementi cellulari fagocitanti. Induce a pensare ciò anche il fatto che nell'infezione da *P.gallinaceum* lo sviluppo di schizonti endocellulari è più intenso negli endoteli dei capillari cerebrali di cui è nota la scarsa attività fagocitaria.

Ciò che sono venuto esponendo non elimina il dubbio che le forme parassitarie exo-eritrocitiche rappresentino fasi di sviluppo di un altro parassita che potrebbe diffondersi nell'organismo quando il sistema reticolo-endoteliale non offre più alcuna difesa.

RIASSUNTO

1) si conferma che negli stadi cronici delle infezioni da *P.gallinaceum* compaiono schizonti in via di sviluppo nelle cellule appartenenti al sistema reticolo-endoteliale e che non esiste un rapporto diretto tra l'intensità dell'infezione dei globuli rossi e l'infezione delle cellule endoteliali;

2) è presumibile che lo sviluppo di schizonti nelle cellule del sistema reticolo-endoteliale sia un fenomeno accidentale conseguente la minorata funzione fagocitaria degli elementi del reticolo.

Roma. — Istituto di Sanità Pubblica - Lab. di Malariologia. Maggio 1938-XVI.

BIBLIOGRAFIA

1. BRUMPT E. - « Paludisme aviaire: *Plasmodium gallinaceum*, n. sp. de la poule domestique » - Compt. rend. Acad. Sciences, 200, 783-785 (1935).
2. CASSUTO N. - « Il sistema reticolo-istiocitario nella malaria delle scimmie con particolare riguardo ai fenomeni immunitari » - Riv. di Malariol., 15, 240-257 (1936).
3. CSARIS DEMEL A. - « Considerazioni sulla infezione da *Leishmania* » - Gior. Ital. Malatt. esotic. e trop. ed Igiene colon., 10, 173-175, Torino.

4. JAMES S. P. & TATE P. - « New knowledge of the life cycle of malaria parasites »
- Nature, 139, 545 (1937).
5. JAMES S. P. & TATE P. - « Preparations illustrating the recently discovered cycle
of avian malaria parasites in reticulo-endothelial cells » - Trans. Roy. Soc. Trop.
Med. & Hyg., 31, 4-5 (1937).
6. JAMES S. P. & TATE P. - « Exoerithrocytic schizogony in *Plasmodium gallinaceum*
Brumpt, 1935 » - Parasitology, 30, 128-139 (1938).
7. KROO' H. e VON JANCsó N. - « Die Bedeutung des Reticuloendothels für die Im-
munität und Chemiotherapie » - Zeitschr. Hyg. u. Infektionshr., 112, 544-558
(1931).

