
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

GIANCARLO GIBERTINI, SERGIO FILONI, NICOLA
CATALINI

**Influenza dell'irradiazione sulla localizzazione della
fosfatasi acida nei linfonodi cervicali di topi**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 50 (1971), n.2, p. 255–258.*
Accademia Nazionale dei Lincei

[<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1971_8_50_2_255_0>](http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1971_8_50_2_255_0)

L'utilizzo e la stampa di questo documento digitale è consentito liberamente per motivi di ricerca e studio. Non è consentito l'utilizzo dello stesso per motivi commerciali. Tutte le copie di questo documento devono riportare questo avvertimento.

*Articolo digitalizzato nel quadro del programma
bdim (Biblioteca Digitale Italiana di Matematica)
SIMAI & UMI*

<http://www.bdim.eu/>

Biologia. — *Influenza dell'irradiazione sulla localizzazione della fosfatasi acida nei linfonodi cervicali di topi*^(*). Nota di GIANCARLO GIBERTINI, SERGIO FILONI e NICOLA CATALINI, presentata^(**) dal Socio A. STEFANELLI.

SUMMARY. — The effect of X-rays (450 r) upon the distribution of acid phosphatase in the cervical lymph nodes of total body irradiated young mice was studied. Immediately after irradiation the cortex of lymph nodes displayed a higher enzymatic activity than the medulla.

The intense enzymatic activity was localised in the lymphatic nodules of lymph nodes, and it was particularly evident in their central germinal.

The higher acid phosphatase content observed following X-ray irradiation induced us to presume two populations of lymphocytes characterized by a different radiosensitivity, as was detected in the thymus.

Nel contesto di un primo studio riguardante la localizzazione della fosfatasi acida sia nella regione corticale che midollare del timo (Gibertini 1968 a) e di una successiva indagine sulla migrazione dei linfociti timici nei linfonodi cervicali di topi sottoposti a diverse condizioni sperimentali (Catalini e coll. 1970), abbiamo ritenuto opportuno seguire la distribuzione della fosfatasi acida nei linfociti dei linfonodi cervicali di topi totalmente irradiati, per effettuare un confronto tra la localizzazione di questo enzima nei linfonodi e quella, già descritta, nei timociti di animali parimenti trattati.

MATERIALI E METODI

Sono stati usati 28 topi di 30 giorni di età, del peso di 13-15 g, del ceppo Swiss, di sesso femminile.

21 di questi animali, previa anestesia con Nembutal (0,015 ml/g. di peso corporeo e diluito in H₂O nelle proporzioni di 1 : 9), erano sottoposti ad una panirradiazione del corpo di 450 r (Apparecchio Gilardoni 180 KV, 6 mA; filtri da 3 mm di Al + 0,1 di Cu; distanza focale: 50 cm.; intensità: 20 r/min., misurata in aria con dosimetro Gilardoni). I rimanenti 7 topi venivano tenuti come controlli.

Gli animali erano sacrificati dopo 8 ore, 1 g., 2 gg., 3 gg., 5 gg., e 8 gg. dopo irradiazione, in numero di 3 topi irradiati ed uno di controllo, per ogni fissazione.

(*) Il lavoro è stato eseguito nell'Istituto di Anatomia Comparata «G. B. Grassi» dell'Università di Roma.

(**) Nella seduta del 20 febbraio 1971.

I linfonodi cervicali sia degli animali totalmente irradiati che dei controlli, venivano fissati in formolo-calcio $0-4^{\circ}\text{C}$, per la durata di 6-12 ore.

Il metodo seguito per la determinazione della fosfatasi acida è quello descritto da Gomori (1952) modificato, già riportato in precedenti lavori da uno di noi (Gibertini 1968 a; 1968 b); le prove di controllo della reazione enzimatica venivano effettuate sia mediante l'inibizione dell'enzima con l'aggiunta, nel mezzo di incubazione, di fluoruro di sodio 0,01 M, sia incubando le sezioni di linfonodi nel mezzo di Gomori privo di β -glicerofosfato.

DESCRIZIONE DEI RISULTATI

Le sezioni dei linfonodi cervicali degli animali di controllo, tenute ad incubare nel mezzo di Gomori a pH 5 per 30 minuti, mostrano, durante tutto il periodo dell'esperimento, una bassa attività fosfatasica acida, all'incirca ugualmente diffusa nella zona corticale e nell'area midollare (fig. 1).

Invece, negli animali sottoposti a panirradiazione del corpo, già 8 ore dopo si riscontra un aumento dell'attività enzimatica nei linfonodi ed è possibile mettere in evidenza una maggiore distribuzione della fosfatasi nella regione corticale (fig. 2).

Un giorno dopo trattamento con raggi X, si nota, rispetto ad 8 ore, un ulteriore incremento dell'attività fosfatasica, specialmente localizzata a livello della zona più esterna dell'area corticale del linfonodo, mentre nei cordoni midollari l'attività enzimatica appare piuttosto scarsa (fig. 3). Inoltre, proprio a questo stadio (cioè un giorno dopo irradiazione) si nota un'intensa attività enzimatica a livello dei centri germinativi dei linfonodi, con notevoli localizzazioni sia nell'area centrale germinativa che nei noduli primari più periferici (fig. 4).

A 3-5 giorni dall'esperimento, viene nuovamente a ricostituirsi una certa uniformità per quanto riguarda la localizzazione dei granuli di reazione, così che possono trovarsi ugualmente distribuiti sia nella parte corticale che in quella midollare.

A questi stadi (3-5 gg. post-irradiazione), non abbiamo più notato attività fosfatasica acida a livello dei centri germinativi, così come è scomparsa la distribuzione, negli stadi precedenti così notevole, dell'enzima nelle zone più periferiche del linfonodo.

Al termine dell'esperimento (8 gg. dopo 450 r), l'attività enzimatica nei linfonodi cervicali dei topi è alquanto ridotta, sebbene ancora discretamente evidenziabile alla periferia dei vasi linfatici.

Anche a questo stadio non è stata riscontrata attività fosfatasica nei centri germinativi e comunque non è stata messa in evidenza una maggiore attività dell'enzima a carico della regione corticale del linfonodo, rispetto alla midollare (fig. 5).

DISCUSSIONE

L'effetto dei raggi X sul tessuto linfoide per quanto riguarda la localizzazione di un altro enzima litico, la β -glucuronidasi, è stato studiato da Pellegrino e Villani (1957) nei ratti e confrontato con l'effetto del digiuno (1956).

Nel lavoro del 1956, questi Autori osservarono un notevole incremento dell'attività β -glucuronidasica nei linfonodi di ratti tenuti a digiuno ed un corrispondente abbassamento di tale attività in rapporto al periodo della rialimentazione. Se gli animali venivano sottoposti a totale irradiazione del corpo (1957), già un giorno dopo irradiazione alcuni organi linfoidei, quale la milza ed il timo, esibivano un'apprezzabile attività enzimatica, che era massima al 2° giorno, mentre intorno al 7° giorno, in questi organi ed anche nei linfonodi, l'attività della β -glucuronidasi ritornava entro limiti normali.

Barka, Schaffner e Popper (1961) hanno preso in esame la relazione tra fosfatasi acida e particolari corpi densi, simili ai lisosomi, nelle cellule della milza, del timo e dei linfonodi.

Infine, Meijer e Willighagen (1961) studiando l'attività della fosfatasi acida sia nelle cellule epatiche che nei linfociti della milza, nei topi, hanno trovato un aumento delle attività enzimatiche in queste strutture, in seguito a somministrazione intraperitoneale di varie sostanze macromolecolari; Hofman e coll. (1961) hanno descritto una maggiore attività sia della fosfatasi acida che della β -glucuronidasi nel timo di ratto, in seguito a basse dosi di raggi X, sempre comprese tra 150 e 300 r.

Inoltre, è stato messo in evidenza un diverso comportamento tra i linfociti della regione corticale e quelli della zona midollare del timo (Kallman e Kohn 1955; Hofman e coll. 1961; Trowell 1961, 1964; Gibertini 1967), ed è stato compiuto uno studio della attività della fosfatasi acida e della β -glucuronidasi in timi di ratti totalmente irradiati (Rahman 1962) da cui risulterebbe che i lisosomi sono localizzati più abbondantemente nel citoplasma di quei linfociti timici dotati di maggiore radiosensibilità.

Gibertini (1968 a) ha descritto nel timo di giovani topi irradiati una attività della fosfatasi acida a carico della regione corticale notevolmente superiore a quella riscontrabile nell'area midollare.

Nel presente lavoro, immediatamente dopo trattamento con raggi X, si riscontra una maggiore attività dell'enzima a carico della parte più periferica della regione corticale del linfonodo, e, successivamente, si nota un'intensa localizzazione della fosfatasi acida a carico dei centri germinativi del linfonodo.

Questo risultato potrebbe far pensare, parallelamente a quanto abbiamo verificato nel timo sottoposto alle stesse condizioni sperimentali, all'esistenza, anche nei linfonodi, di due popolazioni differenti di cellule linfoitiche, una radiosensibile, l'altra radioresistente.

Inoltre, la notevole attività enzimatica nei centri germinativi, può essere spiegata, oltre che dalla composizione cellulare del centro stesso, dal notevole danno che si verifica al livello delle sue cellule a causa della elevata sensibilità alle radiazioni di quella popolazione cellulare.

BIBLIOGRAFIA

- BARKA T., SCHAFFNER F. e POPPER H., « Lab. Invest. », 10, 591 (1961).
CATALINI N., GIBERTINI G. e FILONI S., « Rend. Accad. Naz. Lincei », serie VIII, 48, 543 (1970).
GIBERTINI G., « Riv. Biol. », Suppl. 60, 3 (1967).
GIBERTINI G., « Rend. Accad. Naz. Lincei », Serie VIII, 44, 477 (1968 a).
GIBERTINI G., « Riv. Biol. », 61, 273 (1968 b).
GOMORI G. « Microscopie Histochemistry: Principles and Practice. Chicago, Univ. Chicago Press. », 193 (1952).
HOFMAN L., STANKOVIĆ V. e ALLEGRETTI N., « Radiation Res. », 15, 30 (1961).
KALMAN R. F. e KOHN H. I., « Radiation Res. », 2, 280 (1955).
MEIJER A. E. F. H. e WILLIGHAGEN R. G. J., « Biochem. Pharmacol. », 8, 389 (1961).
PELLEGRINO C. e VILLANI G., « Biochem. J. », 62, 235 (1956).
PELLEGRINO G. e VILLANI G., « Biochem. J. », 65, 599 (1957).
RAHMAN Y. E., « Proc. Soc. Exp. Biol. Med. », 109, 378 (1962).
TROWELL O. A., « Internat. J. Radiat. Biol. », 4, 163 (1961).
TROWELL O. A., « Internat. J. Radiat. Biol. », 8, 239 (1964).

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA I

TAVOLA I.

- Fig. 1. - Sezione di un linfonodo cervicale di topo non irradiato (controllo), incubato nel mezzo di Gomori. Si nota una scarsa attività fosfatasica acida, uniformemente distribuita. $\times 150$.
- Fig. 2. - Sezione di un linfonodo cervicale di topo sacrificato 8 h dopo 450 r, incubato nel mezzo di Gomori. Si nota maggiore attività enzimatica rispetto ai controlli, soprattutto localizzabile nella regione corticale del linfonodo. $\times 500$.
- Fig. 3. - Sezione di un linfonodo cervicale di topo sacrificato 1 giorno dopo irradiazione, incubato nel mezzo di Gomori. L'attività della fosfatasi acida e la sua distribuzione sono pressoché sovrapponibili a quelle riscontrate ad 8 h (fig. 2). $\times 500$.
- Fig. 4. - Sezione di un linfonodo cervicale di topo sacrificato 1 giorno dopo 450 r, incubato nel mezzo di Gomori. Si può osservare una intensa attività enzimatica a livello di un centro germinativo del linfonodo. $\times 500$.
- Fig. 5. - Sezione di un linfonodo cervicale di topo sacrificato 8 gg. dopo panirradiazione, incubato nel mezzo di Gomori. Si osserva una scarsa attività della fosfatasi acida, non più diversamente distribuita nelle due regioni del linfonodo. $\times 400$.

