
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

NICOLA CATALINI, GIANCARLO GIBERTINI, VITO
MARGOTTA, SERGIO FILONI

**Studio comparativo degli effetti biologici dei raggi X
e dell'iprite ($\beta\beta'$ -dicloroetilsolfuro) sul timo di
giovani ratti (*Rattus norvegicus* Erxl.)**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 51 (1971), n.1-2, p. 86-92.*
Accademia Nazionale dei Lincei

http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1971_8_51_1-2_86_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. — *Studio comparativo degli effetti biologici dei raggi X e dell'iprite ($\beta\beta'$ -dicloroetilsolfuro) sul timo di giovani ratti (*Rattus norvegicus* Erxl.) (*)*. Nota (**) di NICOLA CATALINI, GIANCARLO GIBERTINI, VITO MARGOTTA e SERGIO FILONI, presentata dal Socio A. STEFANELLI.

SUMMARY. — The biological effects of X-rays and sulphur mustard on the thymus of young rats were compared.

The results can be summarized as follows:

1) after X-irradiation the thymus presents a remarkably altered histological picture (high percentage of picnotic lymphocytes, mitotic inhibition, alteration of the cortico-medullary boundary) but it has a rather rapid recovery with a maximum of the mitotic activity at the 5th day after irradiation.

2) The treatment with sulphur mustard caused delayed histological injuries and a lowered mitotic activity with a minimum at the 5th day; the recovery was also gradual and slow.

We concluded that even if there is a certain degree of analogy between X-rays and sulphur mustard concerning their histological effects, they have a different mechanism of action.

È noto che gli effetti biologici delle radiazioni ionizzanti e degli agenti chimici radiomimetici (tra i quali è da annoverare la solfoiprite) sono per la maggior parte simili (Gilman e Philips, 1946; Boyland *et al.*, 1948; Revell, 1953; Koller, 1958; Elson *et al.*, 1958; Barer e Joseph, 1960; Trowell, 1960; Hampton, 1967); tali danni si riscontrano con maggior evidenza nel tessuto linfoide (Gilman e Philips, 1946; Kindred, 1947, 1949; Graef *et al.*, 1948; Chanutin e Ludewig, 1949).

A tale proposito abbiamo compiuto uno studio comparativo sulla dinamica dei processi degenerativi e di riparazione a carico del timo di giovani ratti esposti a dosi subletali di raggi X e di solfoiprite, allo scopo di verificare, per quanto riguarda il danno istologico, se esiste o meno uno stesso meccanismo d'azione e di seguire successivamente la rigenerazione del timo con l'intento, anche in questa fase, di accertare in quale modo avvenga la ripopolazione di questo importante organo linfoide, in seguito ai due diversi trattamenti cui sono stati sottoposti gli animali.

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

(**) Pervenuta all'Accademia il 16 luglio 1971.

MATERIALE E METODI

Sono stati usati 90 ratti di sesso maschile del ceppo Wistar (*Rattus norvegicus* Erxl.) di 45 giorni di età e del peso medio di circa 100 g.

Gli animali sono stati suddivisi in quattro lotti:

Lotto I (27 ratti): gli animali di questo lotto venivano sottoposti ad irradiazione totale del corpo (600 r).

Lotto II (27 ratti): inoculazione sottocutanea di 0,625 mg/Kg di solfoiprite ($\beta\beta'$ -dicloroetilolfuro) sciolta in tiodiglycol.

Lotto III (27 ratti): inoculazione sottocutanea di tiodiglycol (0,05 ml/100 g).

Lotto IV (9 ratti): questi animali non subivano alcun trattamento.

Le caratteristiche fisiche dell'irradiazione erano le seguenti: 180 KV, 6 mA, distanza focale = 40 cm, filtro di 3 mm Al, dose = 600 r a 50 r/min, misurata in aria con dosimetro Gilardoni.

Gli animali del *Lotto I*, prima dell'irradiazione, venivano anestetizzati con Nembutal (0,5 ml/Kg).

I ratti di tutti e quattro i lotti venivano sacrificati dopo 8 ore e 1, 2, 3, 5, 8, 10, 15, 20 giorni dal trattamento, nel rapporto di: 3 ratti totalmente irradiati (*Lotto I*), 3 ratti iniettati con $\beta\beta'$ -dicloroetilolfuro (*Lotto II*), 3 ratti iniettati con tiodiglycol (*Lotto III*), 1 ratto non trattato (*Lotto IV*). In tutti i lotti, per ogni stadio di fissazione, venivano conteggiati 1000 linfociti, per ogni preparato istologico di timo. In tale numero erano compresi sia i linfociti picnotici che quelli in mitosi.

DESCRIZIONE DEI RISULTATI

I dati riguardanti il peso del timo dei ratti sottoposti a trattamento con raggi X, con solfoiprite e di quelli di controllo (o non trattati od iniettati con tiodiglycol) sono riportati nel grafico 1.

Dal grafico si può notare che i ratti iniettati con solfoiprite presentano una diminuzione del peso di quest'organo già poco dopo il trattamento, diminuzione che diventa significativa a partire dal 3° giorno dopo l'inoculazione; il momento di massima riduzione ponderale è raggiunto al 10° giorno (1,9 volte inferiore), dopo di che si ha un graduale ritorno verso i valori normali. Per quanto riguarda l'azione dei raggi X sul peso del timo, già dopo 8 ore si nota una diminuzione significativa di quest'organo che si accentua nei giorni successivi e raggiunge la sua punta massima al 2° giorno dopo irradiazione (7,2 volte inferiore). Il valore ponderale del timo dei ratti trattati con raggi X continua a mantenersi notevolmente inferiore rispetto ai controlli fino al termine dell'esperimento.

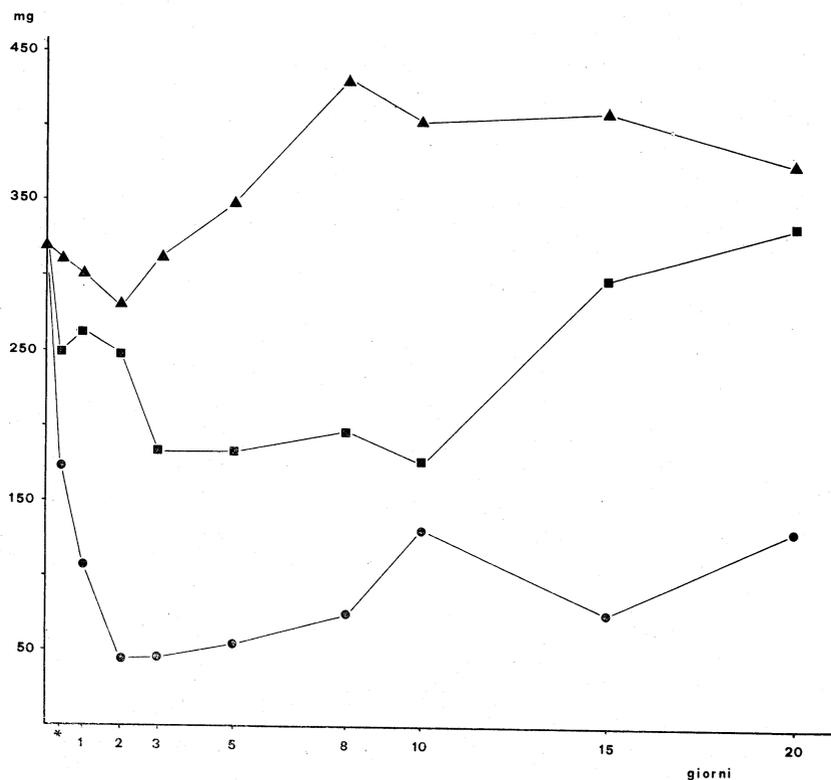


Grafico I. - Andamento del peso del timo nei ratti dell'esperimento.

■—■: ratti trattati con iprite; ●—●: ratti irradiati con raggi X;
 ▲—▲: ratti di controllo (normali ed iniettati con tioglicol, i valori di entrambi sono perfettamente sovrapponibili).

La Tabella I riassume i risultati che si riferiscono al numero delle cellule in attività mitotica e dei linfociti picnotici riscontrati nei primi due lotti.

TABELLA I.

TEMPO DOPO TRATTAMENTO	T I M O					
	Ratti totalmente irradiati (600 r)			Ratti iniettati con iprite (0,625 mg/kg)		
	Peso (mg)	Picnosi (%)	I.M. (%)	Peso (mg)	Picnosi (%)	I.M. (%)
8 ore	176	43,6	0	250	0	1,3
1 giorno	107	56,0	0	266	0	0,9
2 giorni.	45	0	0,4	247	0	1,0
3 giorni.	46	0	0,9	182	0	1,1
5 giorni.	55	0	2,8	182	4,0	0,5
8 giorni.	75	0	2,0	198	0	2,2
10 giorni	133	0	2,2	174	0,6	1,8
15 giorni	75	0	0,9	299	0	1,3
20 giorni	134	0	1,8	337	0	1,6

Per quanto riguarda la percentuale di linfociti picnotici degli animali del *Lotto I* (esposti ai raggi X), già 8 ore dopo irradiazione il numero dei linfociti picnotici è alquanto elevato (43,6 %) ed a 1 giorno (Tav. I, fig. 2) si ha il massimo danno linfocitico (56 % di linfociti picnotici). La regione corticale è quella maggiormente interessata al danno istologico, rimanendo la porzione midollare pressochè esente da picnosi. Già a partire dal 2° giorno post-irradiazione non si riscontrano più linfociti picnotici.

Parallelamente, si può seguire il calcolo dell'Indice mitotico, sempre nei ratti sottoposti a totale irradiazione del corpo (grafico 2). Mentre ad 8 ore e 1 giorno non abbiamo riscontrato cellule in attività mitotica, al 2° giorno

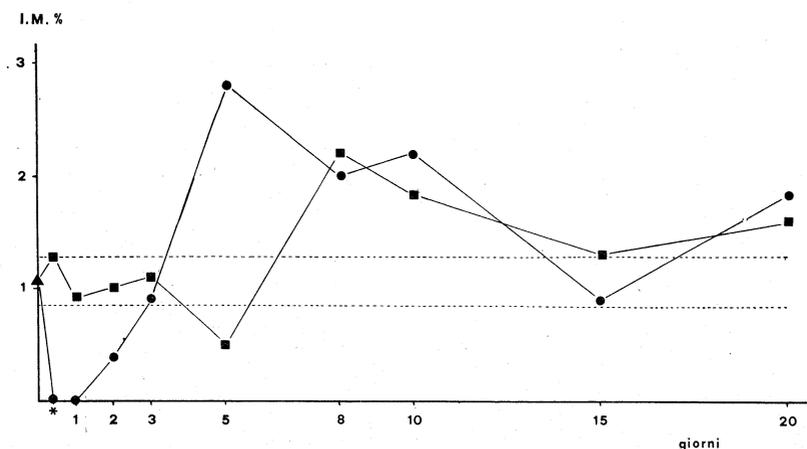


Grafico 2. — Indice mitotico percentuale dei linfociti timici nei ratti dell'esperimento.

■ — ■ : ratti trattati con iprite; ● — ● : ratti irradiati con raggi X;
 : ratti normali di controllo (I.M. = $1,07 \pm 0,22$ % con probabilità del 95%).

compaiono alcune mitosi che aumentano al 3° giorno, raggiungendo i valori trovati nei controlli. Al 5° giorno (Tav. II, fig. 5) si ha il momento di massima attività mitotica, che è di circa 2,5 volte superiore a quella dei controlli. Fino al 10° giorno l'I.M. si mantiene più elevato se confrontato con quello dei controlli, quindi ritorna verso valori normali per poi innalzarsi di nuovo al 20° giorno.

Per quanto riguarda i ratti del *Lotto II*, trattati con iprite, fino al 2° giorno post-inoculazione non abbiamo riscontrato alterazioni visibili nel quadro istologico del timo. Tra il 3° e l'8° giorno, dal punto di vista istologico, si nota un maggior danno a carico della regione corticale (soprattutto nella zona più periferica) e la tendenza dei linfociti picnotici ad accumularsi in prossimità dei vasi sanguigni. Non si nota sempre uniformità di danno istologico, anche in animali appartenenti allo stesso stadio di fissazione. Al 3° giorno infatti, uno dei casi trattati presenta la percentuale più alta di linfociti picnotici (16 %) riscontrata durante tutta la durata dell'esperimento, mentre gli altri due casi mostrano danni pressochè irrilevanti. Il 5° giorno (Tav. I, fig. 3) presenta una maggiore uniformità per quanto riguarda le anomalie della struttura timica,

in tutti i casi esaminati, con una percentuale media di cellule linfocitiche picnotiche del 4 %. A partire dall'8° giorno, e fino al termine dell'esperimento, non abbiamo più riscontrato danni istologici a carico del timo.

L'I.M. di questo lotto di ratti trattati con iprite si mantiene su valori prossimi a quelli normali fino al 3° giorno, mentre al 5° giorno si nota una diminuzione delle cellule in attività mitotica (I.M. = 0,5 %, mentre nei controlli I.M. = $1,07 \pm 0,22$ %). A partire dall'8 giorno (Tav. II, fig. 6) e fino al termine dell'esperimento, il valore dell'I.M., riscontrato nei ratti trattati con iprite, si mantiene superiore a quello dei controlli.

Per quanto riguarda i ratti iniettati con tioglicol per controllo, il quadro istologico dei loro timi non si discosta da quello normale.

DISCUSSIONE

I primi Autori che misero in evidenza la somiglianza degli effetti farmacologici tra i vescicanti e le radiazioni ionizzanti furono Gilman e Philips nel 1946 e, subito dopo, Boyland *et al.* nel 1948.

Da allora sono stati compiuti numerosi studi, tra i quali alcuni sul tessuto linfoide, sia in seguito ad irradiazione (Kallmann e Kohn, 1955; Smith e Kiefer, 1957; Trowell, 1961, 1966; Puck, 1966; Gibertini, 1967 a, 1967 b; Engeset *et al.*, 1968; Gibertini 1968; Gibertini e Monari, 1968; Kenneth *et al.*, 1968; Palle e Clark, 1968; Gibertini e Catalini, 1969 a; Gibertini *et al.*, 1969 b, 1969 c; Catalini *et al.*, 1970) che dopo somministrazione di sostanze radiomimetiche (Kindred, 1947; Young, 1947; Chanutin e Ludewig, 1948; Kindred, 1949; Butler *et al.*, 1950; Alexander, 1961; Koller, 1961; Herranen, 1967; Mauro e Elkind, 1967). Questo tessuto è stato frequentemente oggetto di studio, a causa della sua elevata sensibilità sia alle radiazioni che all'azione dei radiomimetici.

Nella nostra indagine sul timo di giovani ratti, confrontando gli effetti dei raggi X e della solfoiprite, da subito dopo il trattamento fino a 20 giorni, abbiamo potuto notare non soltanto una diversa entità del danno, ma anche una sua differente evoluzione e recupero. Infatti, mentre istologicamente si può rilevare come i raggi X esplichino la loro azione già dopo poche ore e ad 1 giorno provochino la più elevata percentuale di linfociti picnotici, i timi di ratti trattati con iprite non manifestano, per i primi 2 giorni, alcuna anomalia nella loro struttura ed è solamente tra il 3° ed il 5° giorno che compaiono, in misura limitata, alcuni segni di degenerazione istologica. Quindi, mentre nel caso degli animali sottoposti ad irradiazione, il danno si manifesta piuttosto rapidamente ed in modo intenso, ma è di breve durata, nei ratti iniettati con $\beta\beta'$ -dicloroetilolfuro le variazioni del quadro istologico sono, in rapporto, ritardate nel tempo e, sebbene di minore entità, più durature.

Parimenti differente si presenta il fenomeno di recupero del timo a seconda del trattamento riservato agli animali: nei ratti totalmente irradiati, mentre nelle prime ore e fino al 1 giorno si nota una completa stasi mitotica, successi-

vamente si ha una lenta ripresa dell'attività cellulare che, al 5° giorno post-irradiazione, raggiunge la sua punta massima.

Nei ratti trattati con iprite, non si riscontra mai un arresto dell'attività mitotica, ma, a partire dal 3° giorno, un rallentamento, che al 5° giorno presenta un valore pari circa alla metà del valore normale. Da questo momento in poi si ha un incremento dell'attività mitotica che raggiunge il massimo all'8° giorno. Nei giorni successivi, pur mantenendosi il valore dell'I.M. superiore a quello dei controlli, l'attività mitotica tende a normalizzarsi.

Per quanto riguarda la diminuzione del peso del timo nei due gruppi di animali diversamente trattati, quella che si riferisce ai ratti sottoposti ai raggi X è facilmente spiegabile a causa dell'alta percentuale di linfociti picnotici ed al blocco, anche se momentaneo, dell'attività mitotica, mentre si può pensare che la diminuzione ponderale timica dei ratti ipritizzati sia da attribuire, in parte, al piccolo numero di cellule colpite, ma soprattutto al diminuito ritmo mitotico che perdura per qualche giorno e che, comunque, coincide nel tempo con la diminuzione del peso del timo.

Concludendo, possiamo dire in accordo con Galton (1961) e con Koller (1961) che, anche per quanto riguarda il timo, lo studio comparativo degli effetti dei raggi X e della solfoiprite, pur mettendo in evidenza una certa uguaglianza nella manifestazione del danno, ha d'altra parte mostrato, sia per l'evoluzione nel tempo del danno istologico che per il successivo recovery, un meccanismo d'azione probabilmente diverso.

BIBLIOGRAFIA

- ALEXANDER P., « Radiobiology » (Ed. P.L.T. Ilbery), London Butterworths 287 (1961).
 BARER R. e JOSEPH S., « Exp. Cell. Res. », 19, 51 (1960).
 BOYLAND E., CLEGG J. W., KOLLER P., RHODEN E. e WARWICK O. H., « Brit. J. Cancer », 2, 17 (1948).
 BUTLER J. A. V., GILBERT L. A. e SMITH K. A., « Nature », 165, 714 (1950).
 CATALINI N., GIBERTINI G. e FILONI S., « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 48, 543 (1970).
 CHANUTIN A. e LUDEWIG S., « J. Biol. Chem. », 176, 999 (1948).
 ELSON L. A., GALTON D. A. G. e TILL M., « Brit. J. Haemat. », 4, 555 (1958).
 ENGESET A. e SCHOOLEY J. C., « Proc. Soc. Exp. Biol. Med. », 128, 26 (1968).
 GALTON D. A. G., « Radiobiology » (Ed. P. L. T. Ilbery), London Butterworths- 298 (1961).
 GIBERTINI G., « Riv. Biol. », 60, 3 (1967 a).
 GIBERTINI G., « Boll. Zool. », 34, 124 (1967 b).
 GIBERTINI G., « Boll. Zool. », 35, 399 (1968).
 GIBERTINI G. e MONARI C., « Riv. Biol. », 61, 395 (1968).
 GIBERTINI G. e CATALINI N., « Rend. Acc. Naz. Lincei », ser. VIII, 46, 82 (1969 a).
 GIBERTINI G., CATALINI N. e FILONI S., « Riv. Biol. », 62, 411 (1969 b).
 GIBERTINI G., FILONI S. e CATALINI N., « Boll. Zool. », 36, 369 (1969 c).
 GILMAN A. e PHILIPS F. S., « Science », 103, 409 (1946).
 GRAEF I., KARNOFSKY D. A., JOGER V. B., KRICHESKY B. e SMITH H. W., « Am. J. Path. », 24, 1 (1948).
 HAMPTON J. C., « Radiation Res. », 30, 576 (1967).
 HERRANEN A., « Biochem. Pharmacol. », 16, 406 (1967).
 KALLMANN R. e KOHN H., « Radiation Res. », 2, 280 (1955).

- KENNETH L. J., CHRISTENSEN G. M. e FORKEY D. J., « Radiation Res. », 34, 366 (1968).
KINDRED J. E., « Arch. Path. », 43, 253 (1947).
KINDRED J. E., « Arch. Path. », 47, 378 (1949).
KOLLER P. C., « Ann. N. Y. Acad. Sci. », 68, 783 (1958).
KOLLER P. C., « Radiobiology » (Ed. P.L.T. Ilbery) - London Butterworths - 281 (1961).
MAURO F. e ELKIND M. M., « Science », 155, 1561 (1967).
PALLE G. e CLARK S. L. Jr., « Am. J. Anat. », 122, 573 (1968).
PUCK T. T., « Radiation Res. », 27, 272 (1966).
REVELL S. H., « Heredity », 107 (6 suppl.), (1953).
SMITH C. e KIEFER D., « Proc. Soc. Exp. Biol. Med. », 94, 601 (1957).
TROWELL O. A., « Biochem. Pharmacol. », 5, 53 (1960).
TROWELL O. A., « Internat. J. Rad. Biol. », 4, 163 (1961).
TROWELL O. A., « Internat. J. Rad. Biol. », 8, 239 (1966).
YOUNG L., « Cancer J. Res. », 25, 141 (1947).

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE I-II

TAVOLA I.

- Fig. 1. - Timo di ratto normale di 45 giorni di età, fissato all'inizio dell'esperimento.
Colorazione: Emallume-Eosina. 600×.
- Fig. 2. - Timo di ratto totalmente irradiato, fissato 1 giorno dopo irradiazione. Si nota la regione corticale con un numero straordinariamente elevato di linfociti picnotici.
Colorazione: Emallume-Eosina. 600×.
- Fig. 3. - Timo di ratto trattato con iprite, fissato 5 giorni dopo inoculazione. Sono presenti linfociti picnotici.
Colorazione: Emallume-Eosina. 600×.

TAVOLA II.

- Fig. 4. - Timo di ratto normale di 45 giorni di età, fissato all'inizio dell'esperimento. Si nota tre mitosi (frecce).
Colorazione: Emallume-Eosina. 1400×.
- Fig. 5. - Timo di ratto totalmente irradiato, fissato 5 giorni dopo irradiazione. Sono presenti quattro mitosi (frecce).
Colorazione: Emallume-Eosina. 1400×.
- Fig. 6. - Timo di ratto trattato con iprite, fissato 8 giorni dopo inoculazione. Si notano alcune mitosi (frecce).
Colorazione: Emallume-Eosina. 1400×.

