
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

GIANCARLO GIBERTINI, ASSUNTA PELOSI, NICOLA
CATALINI

**Studio comparativo morfologico ed istologico del
timo e della borsa di Fabrizio di giovani pulcini
(Gallus gallus L.) di razza Wyandotte in seguito ad
irradiazione**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 55 (1973), n.5, p. 592-599.*
Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1973_8_55_5_592_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 morfologico ed istologico del timo e della borsa di Fabrizio di giovani pulcini (Gallus gallus L.) di razza Wyandotte in seguito ad irradiazione (*)*. Nota di GIANCARLO GIBERTINI, ASSUNTA PELOSI e NICOLA CATALINI, presentata (**) dal Socio A. STEFANELLI.

SUMMARY. — A morphological and histological study of the thymus and of the bursa Fabricii of young chicks (*Gallus gallus*, Wyandotte race) submitted to X-ray treatment (600 r) was undertaken for comparative purposes. The two irradiated lymphoid organs displayed different histological patterns. Picnotic lymphocytes were found in the most peripheral cortical region of the thymus (where small lymphocytes represent the majority of the cells) only during the first 3 days after irradiation. In the bursa, instead, the picnotic lymphocytes could be observed until the end of the experiment (30 days), both in the cortical and in the medullar region.

The lymphocytic repopulation is effected by the small cortical lymphocytes, at least in the thymus.

The morphological modifications of the Hassall corpuscles and of the epithelial cysts were also studied. These cysts may have different characters, particularly the "involution epithelial cysts" in the bursa of Fabricius.

In tutte le classi dei Vertebrati esiste un solo organo linfoide centrale, il timo, che, in tutti gli animali nei quali sono state eseguite ricerche di Anatomia comparata, è anche il primo organo che si sviluppa nell'ontogenesi.

Gli Uccelli, o meglio la maggioranza di essi, costituiscono una eccezione a questa regola, in quanto dispongono di un secondo organo linfoide centrale, non reperibile in altre classi, la borsa di Fabrizio.

Il timo e la borsa presentano notevoli somiglianze per quanto riguarda la loro derivazione epiteliale, la loro natura linfoide, la loro crescita durante la vita embrionale ed immediatamente post-natale, la loro prima fase involutiva.

In conseguenza di ciò e, soprattutto, del fatto che esiste notevole discordanza tra i diversi Autori sull'origine dei linfociti della regione corticale e midollare della borsa e del timo, epiteliale secondo alcuni (Auerbach 1960; 1961; 1964), o da cellule epiteliali indifferenziate con la partecipazione di cellule mesenchimatiche (Ackermann e Knouff 1959; 1964; Ackermann 1961, 1962; Ruth 1960; Bosch 1968; Hostetler e Ackermann 1969) o da solo mesenchima (per gli studi sul timo: Moore e Owen 1965, 1967 a, 1967 b; Owen e Ritter 1969 - sulla borsa: Moore e Owen 1965, 1966, 1967 a; sulle tonsille: Leene 1972; sul timo e sulla borsa: Leene e coll. 1973), è stato effettuato uno

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

(**) Nella seduta del 26 novembre 1973.

studio per seguire, dopo una prima fase involutiva, conseguente ad irradiazione, il meccanismo di ripopolamento linfocitico della zona corticale e midollare sia nella borsa che nel timo.

MATERIALE E METODI

Sono stati usati 94 pulcini di gallo domestico di razza Wyandotte, di 6 giorni di età, di entrambi i sessi, del peso medio di $47,7 \pm 3,1$ g.

Lotto I (47 pulcini): questi animali, previa anestesia con Nembutal (0,016 ml/g di peso corporeo), sono stati sottoposti ad irradiazione totale del corpo in posizione supina.

Lotto II (47 pulcini): animali di controllo, semplicemente anestetizzati.

La dose di raggi X era di 600 r (40 r/min), a 180 KV, 6 mA, distanza focale di 40 cm, filtro di 3 mm di Al + 0,1 di Cu.

Prima di ogni stadio di fissazione, venivano pesati i pulcini, il timo e la borsa di entrambi i Lotti; lo schema delle fissazioni era il seguente: dopo 8 ore, ad 1, 2, 3, 5, 8, 10, 15, 20 e 30 giorni dall'inizio dell'esperimento, secondo il rapporto indicato nella Tabella I.

In ogni stadio di fissazione del Lotto I e II, per ogni pulcino venivano effettuati preparati istologici sia del timo che della borsa e veniva eseguita una conta percentuale sia dei linfociti picnotici che di quelli in attività mitotica: sono stati conteggiati circa 1000 linfociti per ciascun timo e circa 1000 per ciascuna borsa, in tutti i pulcini dei due Lotti.

DESCRIZIONE DEI RISULTATI

Variazioni ponderali del timo, della borsa di Fabrizio e dei pulcini nei Lotti I e II: in seguito ad irradiazione, si registra una generale diminuzione del peso complessivo degli animali trattati, rispetto ai controlli; però tale diminuzione ponderale risulta essere significativa solo al 2° giorno e al 5° giorno sperimentale. Per quanto riguarda la significatività della differenza dei valori ponderali tra i timi dei pulcini irradiati e non, essa è stata riscontrata ad 8 ore, 1, 2, 3 gg ed al 20° giorno, mentre negli altri giorni, il calo ponderale del timo irradiato non è significativo rispetto ai controlli. Anche la borsa di Fabrizio subisce una notevole diminuzione in peso e si mantiene significativa, rispetto ai controlli, dall'inizio dell'esperimento e fino al 5° giorno compreso.

Cambiamenti morfologici ed istologici del timo e della borsa di Fabrizio.

Timo: dopo trattamento con raggi X, quest'organo linfoide presenta una considerevole diminuzione di volume; ed è soprattutto la regione corticale a subire le maggiori modificazioni morfo-istologiche: infatti, oltre a ridursi e ad assottigliarsi in misura rilevante, questa zona comprende una notevole percentuale di linfociti picnotici e rarefazione cellulare. Nella regione midollare, nella fase più acuta del danno (8 h-1 g) accanto a corpuscoli di Hassall

tipici, si riscontrano corpuscoli con forma atipica, con cellule periferiche non embricate; sono state inoltre notate formazioni cistiche, non sempre tra di loro morfologicamente simili. In quest'organo non sono più riscontrabili linfociti picnotici a partire dal 3° giorno sperimentale (graf. 1).

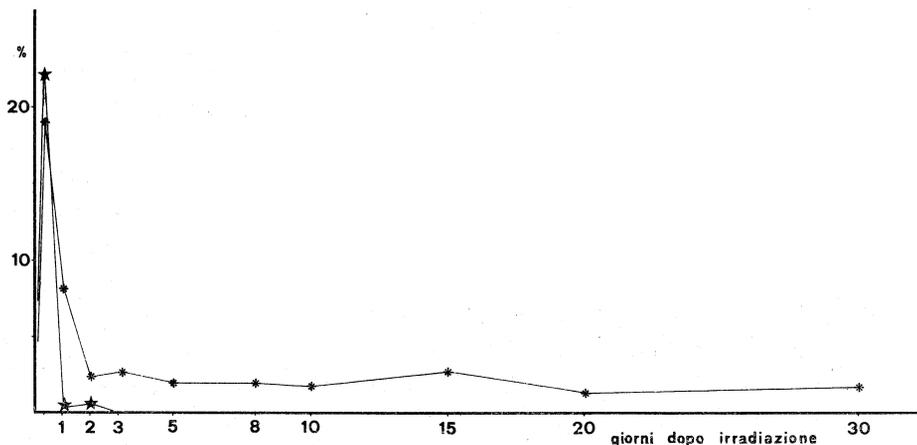


Grafico 1. - Andamento della percentuale dei linfociti picnotici del timo e della borsa in seguito ad irradiazione. ★: linfociti timici; *: linfociti della borsa.

L'attività mitotica, assai ridotta ad 8 ore, mantiene una differenza percentuale significativamente più bassa, rispetto ai controlli, anche ad 1 giorno, raggiunge valori normali a 2-3-5 gg, ridiscende in modo significativo tra gli 8 ed i 15 giorni, e ritorna normale al 20° e 30° giorno (graf. 2; Tav. I, figg. 1-4; Tav. II, figg. 5-8).

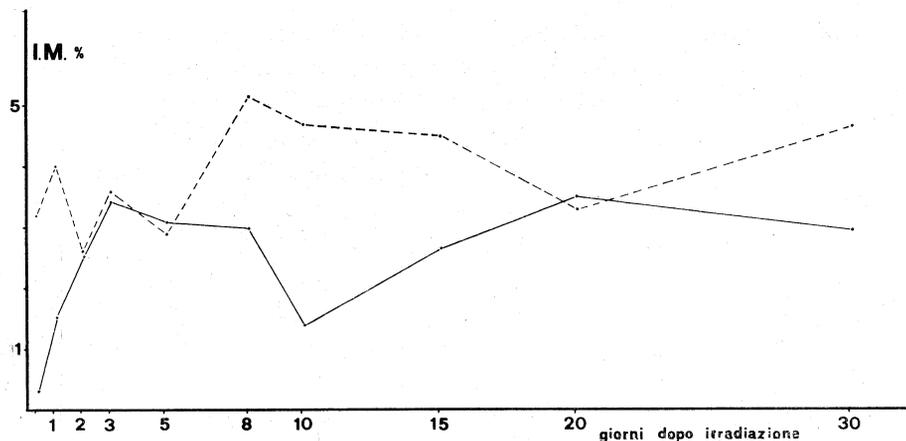


Grafico 2. - Indice mitotico percentuale dei linfociti timici dopo irradiazione. -----: animali di controllo; —————: animali irradiati.

Borsa di Fabrizio: dopo irradiazione è rilevabile una considerevole diminuzione di spessore delle pareti della borsa che la rende molto meno consistente di quella dei controlli.

TABELLA I.

Tempo dopo irradiazione	ANIMALI SACRIFICATI		PESO ANIMALI		TIMO						BORSA					
	Irradiati (n.)	Controlli (n.)	Irradiati (g)	Controlli (g)	Irradiati			Controlli			Irradiati			Controlli		
					Peso (mg)	Linfociti		Peso (mg)	Linfociti		Peso (mg)	Linfociti		Peso (mg)	Linfociti	
						Picnotici (%)	Mitotici (%)									
8 ore	5	5	49±3	50±2	81±22	22±8	0,3±0,2	137±11	3,2±0,9	55±9	19±5	0,9±0,6	80±13	»	»	3,9±1,0
1 gg	5	5	44±7	47±4	43±13	0,14±0,06	1,5±0,3	107±35	3,9±1,2	36±18	8,1±3,0	1,6±0,5	74±6	»	»	3,7±0,5
2 gg	5	5	45±2	50±3	40±9	0,37±0,18	2,5±0,8	130±37	2,5±0,4	37±8	2,3±0,3	2,5±0,5	78±19	»	»	4,6±0,7
3 gg	5	5	47±5	50±4	36±14	»	3,4±0,6	109±41	3,6±1,0	32±10	2,6±1,1	3,2±0,4	70±14	»	»	4,5±0,7
5 gg	5	5	46±9	59±5	43±24	»	3,0±0,3	85±20	2,8±0,6	34±10	1,8±0,5	3,1±0,6	76±28	»	»	5,2±1,1
8 gg	5	5	54±16	65±12	44±39	»	2,9±0,8	106±30	5,1±0,9	39±22	1,8±1,5	3,4±0,5	85±36	»	»	3,2±0,4
10 gg	5	4	58±16	80±23	60±45	»	1,4±0,4	283±217	4,6±1,7	47±25	1,6±0,5	2,5±0,3	147±78	»	»	3,2±0,3
15 gg	4	5	80±10	105±24	89±87	»	2,6±0,9	340±223	4,4±1,0	104±53	2,7±0,9	3,4±0,3	251±203	»	»	4,0±0,5
20 gg	4	4	151±24	147±28	279±100	»	3,5±0,7	646±242	3,2±1,2	160±73	1,2±1,1	3,1±0,7	271±177	»	»	3,4±0,9
30 gg	4	4	186±60	278±111	345±108	»	2,9±1,0	1564±1092	4,6±1,7	383±282	1,7±0,5	4,7±1,1	1847±688	»	»	3,4±0,5

Dal punto di vista istologico, i follicoli appaiono diminuiti volumetricamente, soprattutto a causa dell'assottigliamento stabilitosi a carico della zona corticale del follicolo stesso; alcuni di essi presentano inoltre un aspetto deformato (generalmente una forma allungata).

Si riscontrano linfociti picnotici sia nella sostanza corticale che midollare, dove è inoltre evidenziabile una discreta rarefazione cellulare (Tav. III, fig. 9-12). È stata notata la tendenza da parte dei linfociti picnotici, di altri detriti nucleari e talora di leucociti polimorfonucleati, di accumularsi verso il centro della sostanza midollare del follicolo, dove è stata rilevata la presenza di alcune « cisti involutive epiteliali », soprattutto numerose nel momento di maggior danno linfocitico della borsa.

Il numero percentualmente più elevato di linfociti picnotici è raggiunto dopo 8 ore (19%) (graf. 1), dopo di che la percentuale diminuisce gradatamente, anche se linfociti danneggiati sono presenti fino al termine dell'esperimento. (Alegiani e coll., dopo 400 r, riscontravano linfociti picnotici solo fino al 3° g).

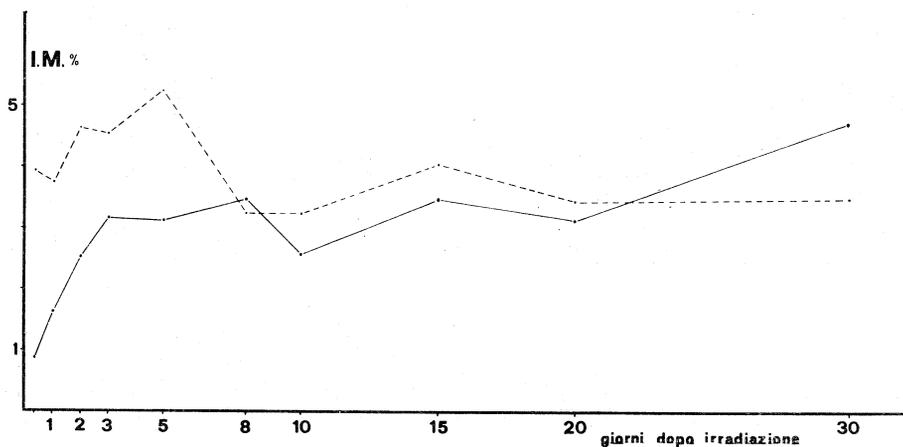


Grafico 3. - Indice mitotico percentuale dei linfociti della borsa dopo irradiazione: -----: animali di controllo; —————: animali irradiati.

L'attività mitotica, anche se notevolmente rallentata nel periodo immediatamente successivo ad irradiazione, non si arresta mai, pur manifestando una diminuzione percentualmente significativa, se confrontata con quella dei controlli, fino al 10° giorno sperimentale (con l'esclusione dell'8°); dal 15° giorno e fino al termine, si ritorna alla sovrapponibilità dei valori mitotici della borsa, nei pulcini dei 2 Lotti (graf. 3 e Tav. IV, fig. 13-16).

DISCUSSIONE

Ad un'analisi comparativa si è manifestato un diverso quadro istologico a carico del timo e della borsa di Fabrizio di giovani pulcini, in seguito a totale irradiazione del corpo.

Il timo appare danneggiato immediatamente dopo trattamento (la massima percentuale di linfociti picnotici è dopo 8 ore), ma già al terzo giorno

sperimentale ha completamente recuperato, in quanto non solo non sono più riscontrabili linfociti picnotici ma anche l'attività mitotica è ritornata su valori sovrapponibili a quelli normali. Al contrario, nella borsa, che pure presenta il massimo danno linfocitico 8 ore dopo l'irradiazione, si riscontrano linfociti picnotici, sebbene in misura assai ridotta, fino al termine dell'esperimento; anche qui si può fissare intorno al terzo giorno la ripresa normale dell'attività mitotica.

Nel timo è riscontrabile il maggior danno nella zona più periferica della regione corticale, dove più numerosi si trovano i linfociti di piccole dimensioni, mentre la porzione midollare risulta molto meno colpita, soprattutto a livello della popolazione dei grandi linfociti, che costituiscono la percentuale più alta di cellule in questa regione.

Per quanto riguarda il ripopolamento linfocitico del timo, Akcermann e Knouff in uno studio sull'embrione di pollo, descrissero la derivazione dei timociti da cellule epiteliali indifferenziate. Tale trasformazione, qualora avvenga, può aver luogo nel timo embrionale, in quanto è raro riscontrare attività mitotica tra le cellule epiteliali del timo di pulcini già schiusi.

Nella nostra indagine, abbiamo potuto seguire il ripopolamento linfocitico timico nelle zone che presentavano il maggior numero di linfociti picnotici e rarefazione cellulare, ripopolamento che avviene, a carico soprattutto della cortex ed in particolare della sua porzione più periferica dove sono presenti in maggior numero i piccoli linfociti. Sempre nel timo, particolare interesse riveste l'ingrossamento dei corpuscoli di Hassall che, nel pulcino, invece sono generalmente di dimensioni ridotte, e la presenza di numerose formazioni cistiche, in rapporto al deterioramento del quadro istologico.

Sia nelle cisti epiteliali che nei corpuscoli di Hassall sono presenti linfociti picnotici ed altri detriti nucleari: questo fatto, per di più collegato con l'aumento volumetrico dei corpuscoli e l'aumento numerico delle formazioni cistiche, fa propendere per l'ipotesi di una funzione di rimozione di materiale in degenerazione e di partecipazione quindi di queste strutture, almeno in determinati casi, a processi di fagocitosi

Esiste inoltre una diversità morfologica tra le varie cisti epiteliali, il cui significato andrebbe più specificatamente indagato.

Per quanto riguarda l'involuzione sperimentale della borsa di Fabrizio, c'è da dire che l'attività mitotica, sebbene ridotta, continua anche in questa fase, e, in particolare, le mitosi dei linfociti persistono più a lungo e più numerose nella zona corticale. Nella parte midollare si verifica una certa rarefazione cellulare, soprattutto verso il centro del follicolo.

Ora è generalmente accettato il concetto che i precursori delle cellule linfoidei, che « entrano » nel timo in sviluppo e nella borsa, sono morfologicamente e funzionalmente identici, in quanto un differente sviluppo in linfociti timici immuno-competenti o linfociti borsa-dipendenti sarebbe indotto dopo che le cellule sono entrate nel timo o nella borsa.

Però, in uno studio al microscopio elettronico sull'embrione di pollo, Leene e coll. (1973), concludevano che la differente struttura di cellule lin-

foidi che penetrano nel timo o nella borsa dell'embrione, possono avere una indicazione di origine differente, essendo il timo, secondo questi Autori, inizialmente popolato da cellule emopoietiche del sacco del tuorlo e la borsa di cellule spleniche emopoietiche.

Anche per quanto si riferisce al nostro caso, rimane il fatto che, dopo irradiazione, esiste un diverso quadro di modificazioni istologiche, un diverso comportamento ed una differente modalità di ripopolamento cellulare tra i linfociti del timo e della borsa di giovani pulcini.

BIBLIOGRAFIA

- ACKERMANN G. A., « American Soc. Cell. Biology », Chicago, Nov. 2-4 (1961).
 ACKERMANN G. A., « J. Cell. Biol. », 13, 127 (1962).
 ACKERMANN G. A. e KNOUFF R. A., « Amer. J. Anat. », 104, 163, (1959).
 ACKERMANN G. A. e KNOUFF R. A., in: Good R. A. e Gabrielsen A. E. (eds). The Thymus Immunobiology. N. Y. Harper e Row, p. 123 (1964).
 ALEGIANI C. R., CATALINI N. e GIBERTINI R., « Riv. Biol. », 65, 111 (1972).
 AUERBACH R., « Development. Biol. », 2, 271 (1960).
 AUERBACH R., « Development. Biol. », 3, 336 (1961).
 AUERBACH R., in Good R. A. e Gabrielsen A. E. (eds.), The Thymus in Immunobiology. N. Y. Harper e Row, p. 95 (1964).
 BOSCH J., « Zool. Jb. Abt. Anat. u. Ontog. », 85, 327 (1968).
 HOSTETLER J. R. e ACKERMANN G. A., « J. Anat. », 124, 57 (1969).
 LEENE W., « Z. Zellforsch », 134, 65 (1972).
 LEENE W., DUZINGS M. G. M. e VAN STEEG G., « Z. Zellforsch. », 136, 521 (1973).
 MOORE M. A. S. e OWEN J. J. T., « Nature », 208, 956 e 989 (1965).
 MOORE M. A. S. e OWEN J. J. T., « Development. Biol. », 14, 40 (1966).
 MOORE M. A. S. e OWEN J. J. T., « Nature », 215, 1081 (1967 a).
 MOORE M. A. S. e OWEN J. J. T., « J. exp. Med. », 126, 715 (1967 b).
 OWEN J. J. T. e RITTER M. A., « J. exp. Med. », 129, 431 (1969).
 RUTH R. F., « Anat. Rec. », 139, 357 (1960).

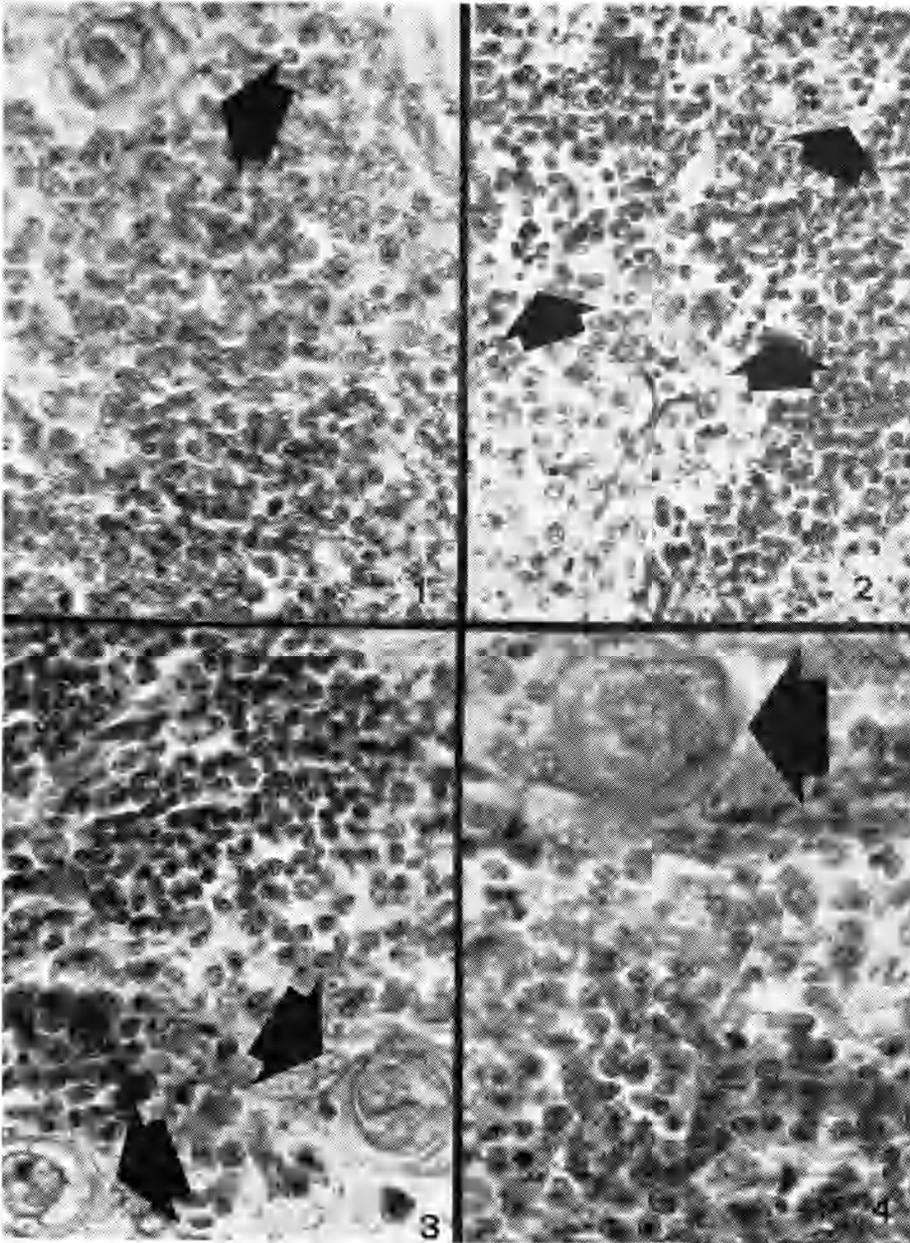
SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE I-IV

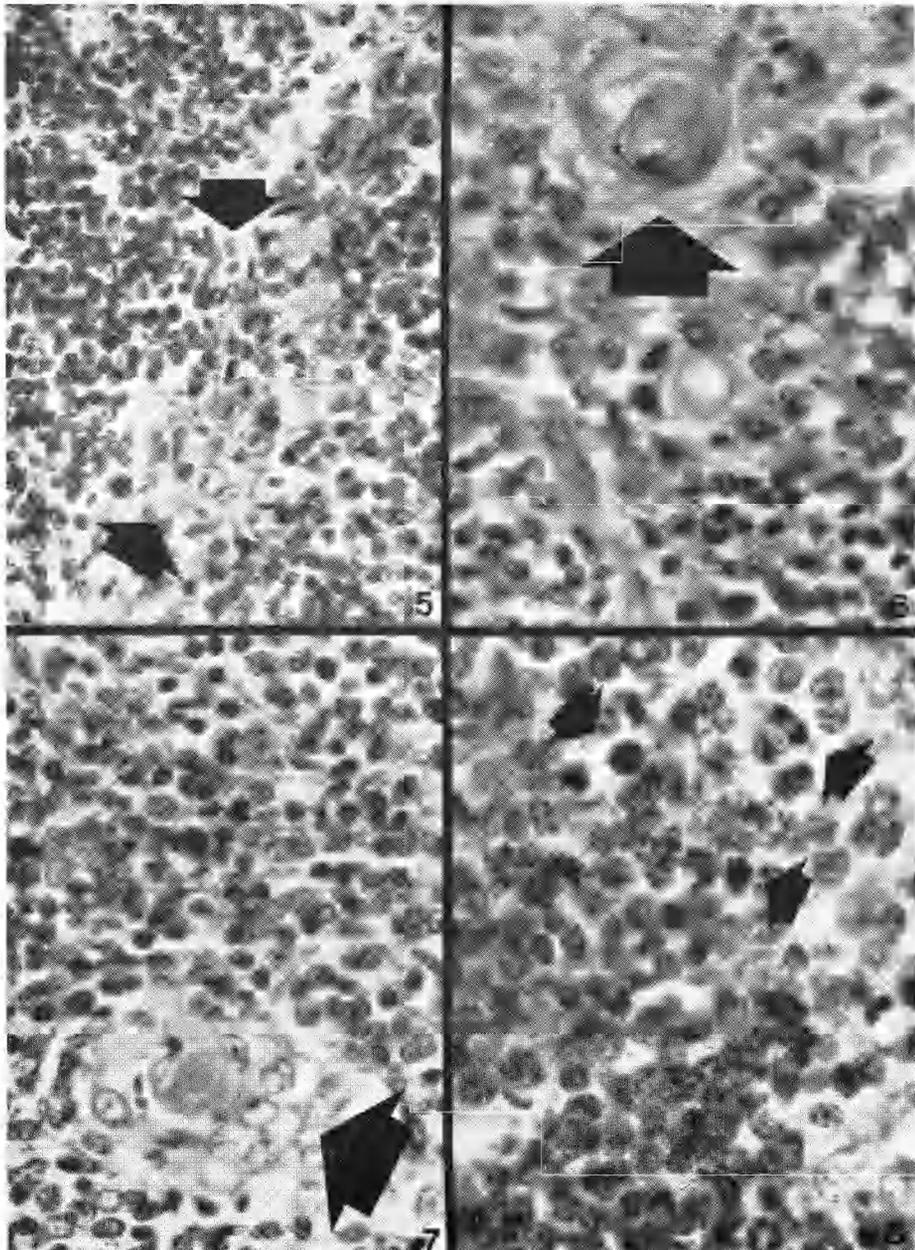
TAVOLA I

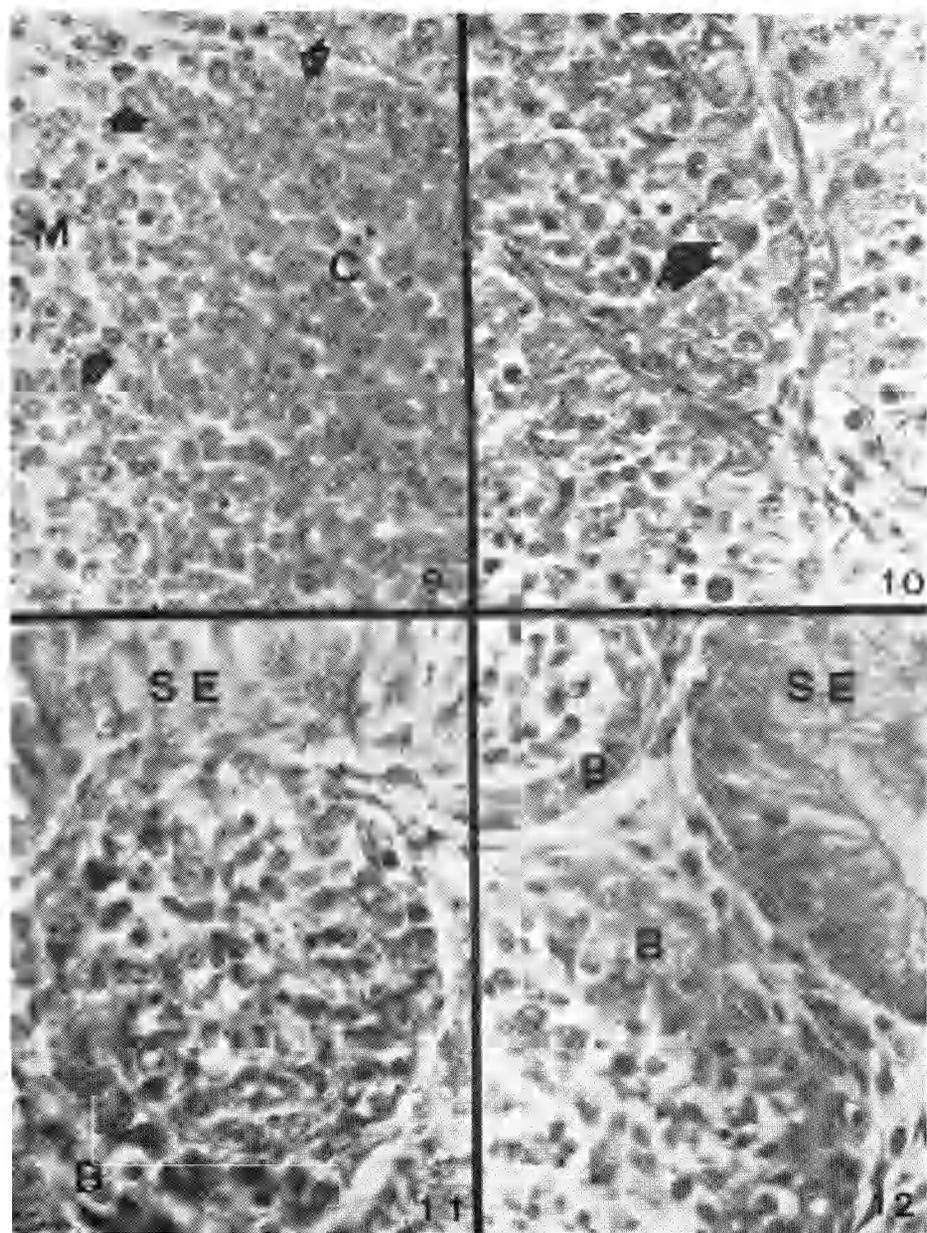
- Fig. 1. - Sezione di timo di un pulcino di controllo. La freccia indica un corpuscolo di Hassall. $\times 640$.
 Fig. 2. - Sezione di timo 8 h dopo irradiazione con raggi X (600 r). Si notano linfociti picnotici raggruppati (frecce). $\times 580$.
 Fig. 3. - Sezione di timo, 1 giorno dopo irradiazione. Sono evidenti due formazioni cistiche. $\times 640$.
 Fig. 4. - Sezioni di timo 2 gg dopo 600 r. Si nota una grossa cisti involutiva. $\times 640$.

TAVOLA II

- Fig. 5. - Sezione di timo 3 gg dopo irradiazione. Ancora evidenti fenomeni di iperemia. $\times 640$.
 Fig. 6. - Sezione di timo 5 gg dopo trattamento con raggi X. Persistono cisti involutive di notevoli dimensioni. $\times 960$.
 Fig. 7. - Sezione di timo 10 gg dopo irradiazione. Corpuscoli di Hassall. $\times 800$.
 Fig. 8. - Sezione di timo 30 gg dopo irradiazione. Le frecce indicano alcune cellule in attività mitotica. $\times 1100$.







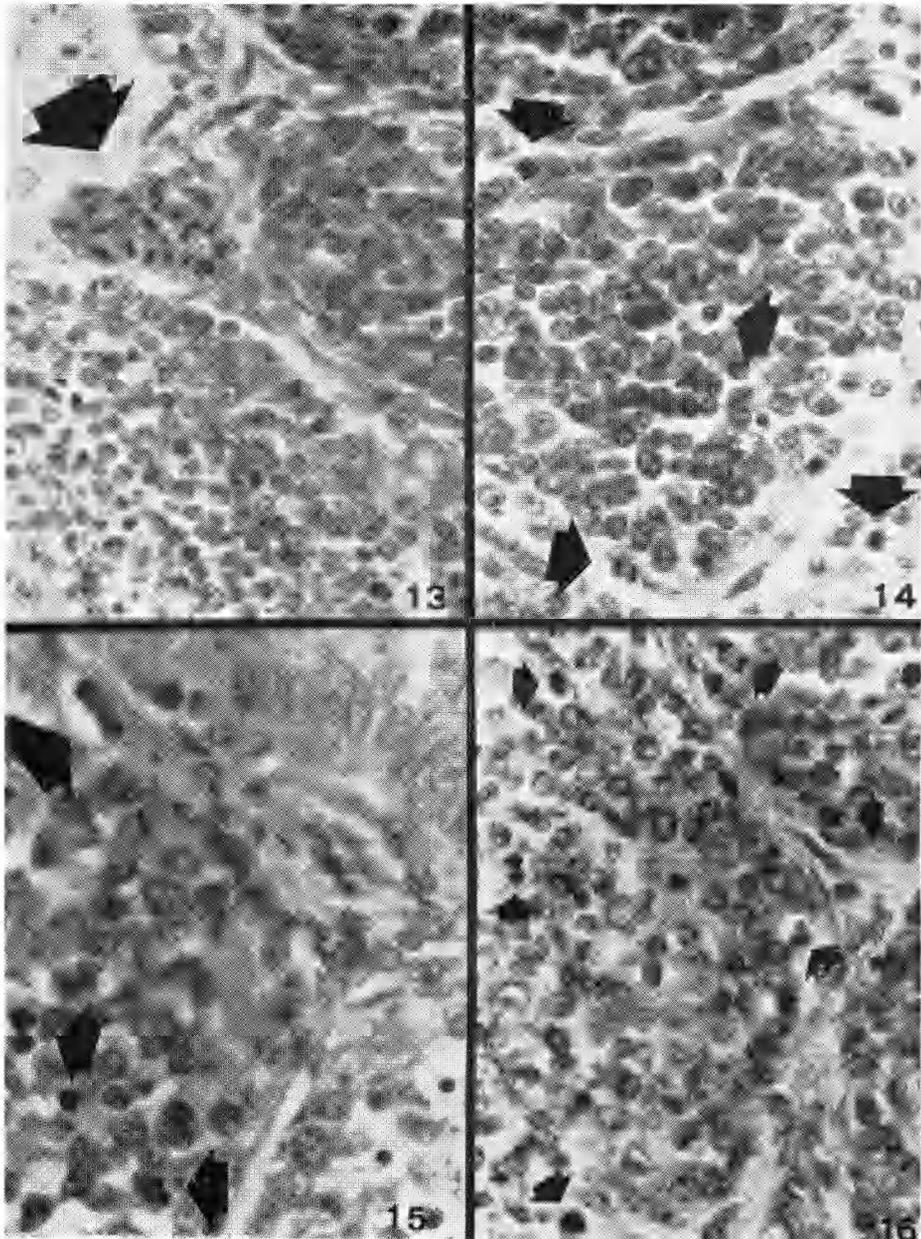


TAVOLA III

- Fig. 9. - Sezione di borsa di Fabrizio di pulcino di controllo. M: zona midollare, C: zona corticale. $\times 640$.
- Fig. 10. - Sezione di borsa di Fabrizio 8 h dopo irradiazione con raggi X (600r). Si nota rarefazione cellulare e la presenza di linfociti picnotici. $\times 640$.
- Fig. 11. - Sezione di borsa di Fabrizio 1 g dopo irradiazione. Si nota un follicolo della borsa con linfociti picnotici. B: membrana basale; SE: superficie epiteliale. $\times 640$.
- Fig. 12. - Sezione di borsa di Fabrizio 2 gg dopo irradiazione. Si può notare rarefazione cellulare all'interno dei follicoli. B: membrana basale; S.E.: superficie epiteliale. $\times 640$.

TAVOLA IV

- Fig. 13. - Sezione di borsa di Fabrizio 3 gg dopo trattamento con raggi X. Si nota una certa vasodilatazione. $\times 800$.
- Fig. 14. - Sezione di borsa di Fabrizio 5 gg dopo irradiazione. È riscontrabile una ripresa dell'attività mitotica (frecce). $\times 800$.
- Fig. 15. - Sezione di borsa di Fabrizio 10 gg dopo irradiazione. Le frecce indicano alcune mitosi. $\times 1000$.
- Fig. 16. - Sezione di borsa di Fabrizio 30 gg dopo irradiazione. L'attività mitotica è notevole. $\times 800$.