
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI

RENDICONTI

GIANCARLO GIBERTINI, EUGENIO CAMPANELLI, NICOLA CATALINI

Effetto del differente trattamento con raggi X sulla fase involutiva e di recupero del timo e della borsa di Fabrizio: analisi comparativa morfo-istologica in giovani pulcini (*Gallus domesticus*) di razza Wyandotte

Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche, Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 56 (1974), n.6, p. 1023–1030.

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1974_8_56_6_1023_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. — *Effetto del differente trattamento con raggi X sulla fase involutiva e di recupero del timo e della borsa di Fabrizio: analisi comparativa morfo-istologica in giovani pulcini (Gallus domesticus) di razza Wyandotte (*)*. Nota di GIANCARLO GIBERTINI, EUGENIO CAMPANELLI e NICOLA CATALINI, presentata (**) dal Socio A. STEFANELLI.

SUMMARY. — A morpho-histologic study of the thymus and of the bursa Fabricii of young chicks (Wyandotte race) following experimental treatments was aim of the present research. The chicks were: 1) totally irradiated; 2) irradiated with shielded thymus; 3) irradiated with shielded bursa. A remarkable difference in X-ray-sensitivity and recovery between thymic and bursal lymphocytes was put into evidence. Moreover it was observed that thymus-shielding influences the percentage of picnotic lymphocytes in the bursa and their presence along the period of time considered in the experiment. The shielding of the bursa results in an enhanced mitotic activity of its lymphocytes; the thymus of these animals shows a mitotic index corresponding to that of control chicks.

Dal momento che negli Uccelli sono presenti, diversamente che in tutti gli altri Vertebrati, due organi linfoidi centrali, il timo e la borsa di Fabrizio, in questi animali risulta di notevole interesse lo studio del problema immunologico. Infatti, poiché la reattività ai trapianti omoplastici è ridotta in pulcini timectomizzati alla nascita e rimane invece inalterata negli Uccelli bursectomizzati (Aspinall e coll., 1963), è stato suggerito che possano esistere due meccanismi immunologici separati (Peterson e coll., 1965; Parrot e De-Sousa 1966 a, 1966 b): 1) immunità associata a cellule timo-dipendenti; 2) produzione umorale anticorpale borsa-dipendente.

È stato inoltre suggerito (Warner e coll., 1962 a, b; 1964) che il timo e la borsa di Fabrizio agiscano come luoghi di maturazione cellulare e che possano così fornire la prima fonte di cellule potenzialmente competenti da un punto di vista immunologico, che poi migrano e vanno a popolare il tessuto linfoide periferico (Good e coll., 1969).

Questi due organi linfoidi centrali, oltre che rivestire notevole importanza quale fonte di cellule immunologicamente competenti, sono interessati ai fenomeni di migrazione linfocitaria e di popolamento del tessuto linfoide periferico (Alegiani e coll., 1972; Gibertini e coll., 1973).

In questa nostra indagine abbiamo cercato di analizzare la reciproca influenza linfocitopoietica del timo e della borsa in differenti condizioni sperimentali, sia durante la fase involutiva che riparativa di questi due organi linfoidi.

(*) Ricerca eseguita nell'Istituto di Anatomia comparata «G. B. Grassi» dell'Università di Roma.

(**) Nella seduta dell'29 giugno 1974.

MATERIALE E METODI

Sono stati usati 143 pulcini di Gallo domestico (razza Wyandotte) di 6 giorni di età, di entrambi i sessi, del peso medio di 50 grammi.

Gli animali venivano suddivisi nei seguenti quattro lotti:

- Lotto I* (34 pulcini): gli animali di questo lotto erano sottoposti ad irradiazione totale del corpo in posizione supina ed in gruppi di 5 alla volta;
- Lotto II* (34 pulcini): gli animali di questo lotto, sempre in gruppi di 5, venivano sottoposti ad irradiazione con schermatura del timo, praticata con una lastrina di 7 mm di Pb;
- Lotto III* (35 pulcini): questi animali venivano sottoposti ad irradiazione con schermatura della borsa di Fabrizio praticata con una lastrina di 7 mm di Pb;
- Lotto IV* (40 pulcini): questi animali non subivano alcun trattamento ed erano utilizzati come controlli.

La dose totale di raggi X, somministrata agli animali durante l'esperimento, era di 700 r (50 r/min), a 180 KV, 6 mA, D.F. = 40 cm., filtro da 3 mm Al + 0,1 mm Cu.

Gli animali dei quattro lotti venivano sacrificati secondo i seguenti stadi di fissazione: dopo 1 g, 2 gg, 3 gg, 5 gg, 8 gg, 10 gg, 15 gg e 20 gg dall'inizio dell'esperimento, sempre nel rapporto di 5 pulcini di controllo, 5 pulcini totalmente irradiati, 5 pulcini irradiati con timo protetto e 5 irradiati con borsa schermata.

Ad ogni stadio di fissazione dei quattro lotti, 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. La conta di queste cellule veniva eseguita calcolando 1000 linfociti per ciascun timo e 1000 linfociti per ciascuna borsa; questa conta percentuale, per ogni singolo stadio di fissazione dei quattro lotti, veniva così ripartita: in media 20.000 linfociti timici e 20.000 linfociti della borsa di Fabrizio.

DESCRIZIONE DEI RISULTATI

Lotto I:

a) *timo*: il massimo danno linfocitico è registrabile un giorno dopo trattamento con raggi X, si riduce, percentualmente, di circa la metà al secondo giorno sperimentale, dopo di che, a partire dal terzo giorno e fino al termine dell'esperimento, non compaiono più linfociti picnotici. L'attività mitotica risulta notevolmente depressa fino al 5° giorno, quindi si registrano nuovamente

TABELLA

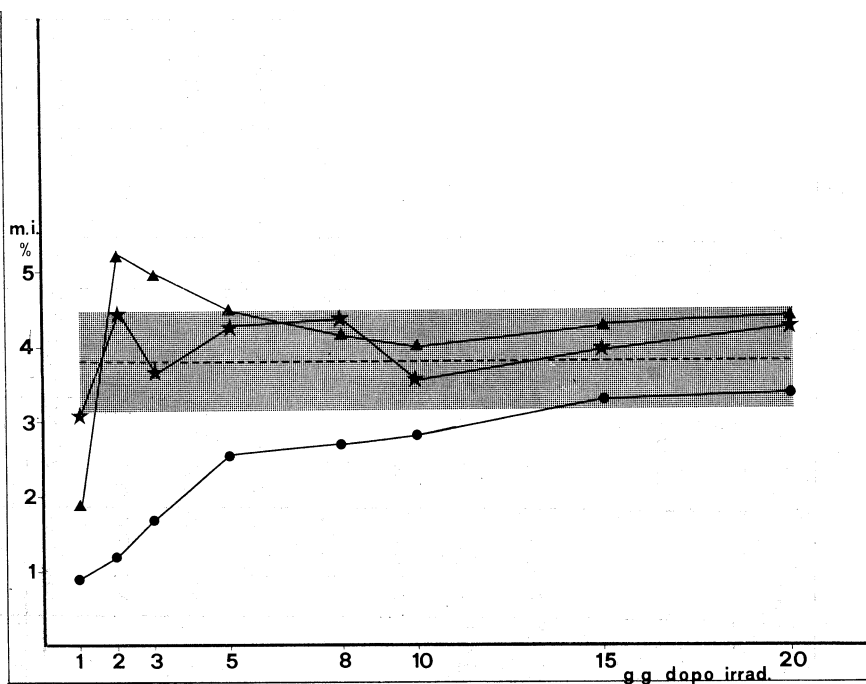
Tempo dopo irradiazione (giorni)	Animali totalmente irradiati						Animali irradiati con timo schermato						Animali irradiati con borsa schermata					
	Linfociti timici			Linfociti della borsa			Linfociti timici			Linfociti della borsa			Linfociti timici			Linfociti della borsa		
	Casi (n.)	picnosi (%)	mitosi (%)	picnosi (%)	mitosi (%)	Linfociti timici	Casi (n.)	picnosi (%)	mitosi (%)	picnosi (%)	mitosi (%)	Linfociti timici	Casi (n.)	picnosi (%)	mitosi (%)	picnosi (%)	mitosi (%)	Linfociti timici
1	5	1,2±0,8	0,9±0,6	5,9±0,8	2,1±0,5	—	5	—	3,1±0,6	4,0±0,3	1,5±0,1	5	1,2±0,5	—	1,9±0,7	—	5,1±0,9	—
2	5	0,6±0,5	1,2±0,8	6,1±1,2	2,1±1,1	—	5	—	4,4±1,1	4,8±1,1	3,1±0,7	5	0,3±0,1	—	5,2±0,6	—	4,5±0,5	—
3	4	—	1,7±0,8	3,0±1,2	3,1±0,6	—	4	—	3,7±0,8	5,0±0,5	3,5±1,1	4	—	—	4,9±0,5	—	4,0±0,3	—
5	4	—	2,6±0,3	5,6±1,4	2,5±0,9	—	4	—	4,3±1,4	1,2±0,3	4,4±0,6	4	—	—	4,5±1,8	—	4,5±0,2	—
8	4	—	2,7±0,8	3,4±0,6	3,8±0,4	—	4	—	4,4±0,7	—	4,0±1,1	4	—	—	4,1±1,0	—	4,2±0,1	—
10	4	—	2,8±1,2	7,2±2,8	3,0±0,7	—	4	—	3,6±0,9	—	4,8±1,6	4	—	—	4,0±0,8	—	5,2±0,3	—
15	4	—	3,3±0,3	4,8±1,1	3,8±1,0	—	4	—	4,0±0,5	—	4,5±1,5	4	—	—	4,3±1,0	—	6,0±0,3	—
20	4	—	3,4±1,2	4,7±0,4	4,9±0,2	—	4	—	4,3±0,4	—	4,9±0,2	5	—	—	4,4±0,8	—	4,0±0,2	—

valori sovrapponibili a quelli dei controlli. Dal punto di vista morfo-istologico si notano evidenti fenomeni di rarefazione cellulare, soprattutto a carico della zona corticale timica, mentre sono stati messi in evidenza nella parte midollare, accanto a normali corpuscoli di Hassal, sia corpuscoli di aumentate dimensioni, che peculiari formazioni paragonabili a strutture cistiche (Tav. I, fig. 3 e 4).

b) *borsa di Fabrizio*: diversamente da quanto registrato nel timo, qui i linfociti picnotici sono presenti, in misura rilevante, fino al termine dell'esperimento. Per quanto riguarda l'indice mitotico (i.m.), esso raggiunge valori vicini alla norma all'8° giorno, risultando tali valori, negli stadi precedenti, significativamente più bassi. L'analisi istologica, oltre a rilevare una discreta contrazione dei follicoli con particolare assottigliamento soprattutto a carico della zona corticale, ha mostrato inoltre la presenza di alcune formazioni cistiche involutive (Tav. I, figg. 1 e 2). (Tabella I).

Lotto II:

a) *timo*: non sono presenti linfociti picnotici in nessuno degli stadi di fissazione, così come in ogni momento dell'esperimento l'attività mitotica linfocitaria si mantiene su valori normali (graf. 1).



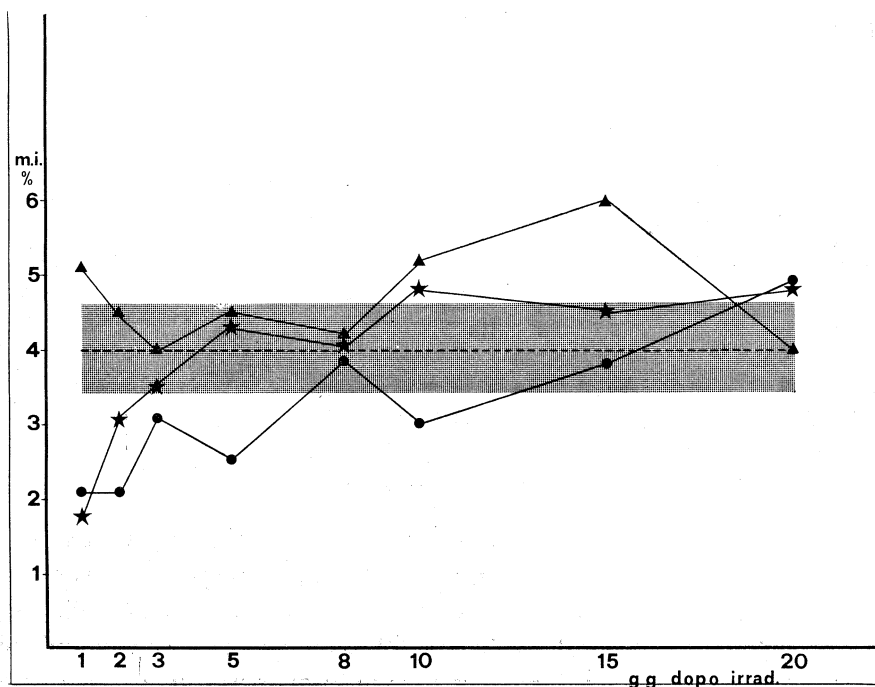
Graf. 1. - Andamento dell'attività mitotica dei linfociti timici in seguito a diverse modalità di trattamento:

- ▲ pulcini irradiati con borsa schermata;
- ★ pulcini irradiati con timo schermato;
- pulcini sottoposti a totale irradiazione del corpo.

b) *borsa di Fabrizio*: sono evidenziabili cellule linfocitiche picnotiche, soltanto nei primi stadi sperimentali, ed esattamente fino al 5° giorno compreso; l'attività mitotica, ad eccezione del 1° giorno quando è significativamente inferiore a quella dei controlli, è su valori normali (graf. 2 e 3). (Tav. II, figg. 5-6-7).

Lotto III:

a) *timo*: durante i primi due giorni di irradiazione si riscontrano linfociti picnotici in misura percentualmente sovrapponibile a quelli riscontrati in timi di pulcini totalmente irradiati; da questo stadio in poi non si ritrovano

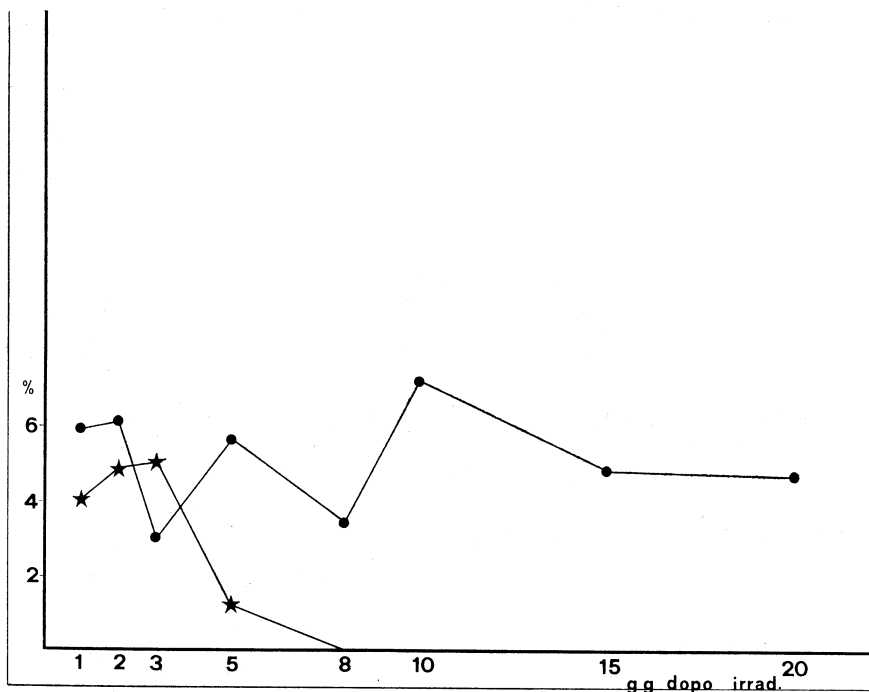


Graf. 2. — Andamento dell'attività mitotica dei linfociti della borsa di Fabrizio in seguito a diverse modalità di trattamento:

- ▲ pulcini irradiati con borsa schermata;
- ★ pulcini irradiati con timo schermato;
- pulcini totalmente irradiati.

più linfociti picnotici. Le cellule in attività mitotica, eccezion fatta per il 1° giorno, quando l'indice mitotico è percentualmente inferiore a quello dei controlli, sono talvolta addirittura più numerose, nei diversi stadi di fissazione, rispetto ai controlli (graf. 2) (Tav. III, figg. 9-10);

b) *borsa di Fabrizio*: nessun linfocita picnotico è presente durante tutto l'esperimento; l'indice mitotico è su valori simili a quelli dei controlli, ad eccezione di alcuni stadi in cui risulta significativamente superiore (graf. 2). (Tav. II, fig. 8; Tav. III, figg. 11-12).



Graf. 3. - Andamento dei linfociti picnotici della borsa di Fabrizio:

- ★ pulcini irradati con timo schermato;
- pulcini irradati totalmente.

DISCUSSIONE

Nel 1972-1973 Leene e Leene e coll., in un'analisi ultrastrutturale del timo e della borsa di Fabrizio in embrioni di pollo, prospettavano una differente origine delle cellule linfoide timiche e bursali; Gibertini e coll. (1973), in seguito ad uno studio radiobiologico del timo e della borsa in pulcini di Gallo domestico di 6 giorni di età, mettevano in evidenza un diverso quadro istologico, un differente danno ed una diversa ripresa linfocitica a carico rispettivamente del timo e della borsa di Fabrizio.

In questa ricerca, nel primo ciclo di irradiazione (totale irradiazione del corpo), i risultati dimostrano una sostanziale differenza tra i linfociti timici ed i linfociti bursali, sia durante la fase involutiva sperimentale che durante la fase di recupero: nel caso del timo, infatti, il danno linfocitico è rilevabile solo fino al 2° giorno dopo irradiazione e l'attività mitotica, durante i primi tre giorni sperimentali, subisce una notevole diminuzione; nella borsa i linfociti picnotici sono presenti invece fino al termine dell'esperimento e l'attività mitotica, sebbene ridotta, non raggiunge i bassi valori riscontrati nel timo.

Nel secondo ciclo di trattamento (irradiazione con timo schermato), la protezione del timo incide in modo positivo ed in misura rilevante sulla percentuale dei linfociti della borsa e sulla loro durata nel tempo, dal momento che le picnosi scompaiono all'8° giorno sperimentale; altrettanto significativa

appare l'incidenza sull'attività mitotica delle borse irradiate, dove, ciononostante, vengono registrati valori dell'indice mitotico (ad eccezione del 1° giorno) sovrapponibili a quelli dei controlli. Nel terzo ed ultimo ciclo (irradiazione con borsa protetta) è stata messa in evidenza nel timo, irradato, un'attività mitotica simile a quella dei controlli; nella stessa borsa di Fabrizio schermata, inoltre, in qualche stadio, il valore dell'indice mitotico è significativamente più elevato di quello dei controlli.

Non è stato riscontrato, infine, alcun dato degno di rilievo per quanto riguarda la percentuale ed il perdurare di timociti picnotici, in seguito a protezione della borsa di Fabrizio.

BIBLIOGRAFIA

- ALEGIANI C. R., CATALINI N. e GIBERTINI G. (1972) - « Riv. Biol. », 65, 111.
 ASPINALL R. L., MEYER R. K., GRAETZER M. A. e VOLFE H. R. (1963) - « J. Immunol. », 90, 872.
 GIBERTINI G., PELOSI A. e CATALINI N. (1973) - « Rend. Accad. Naz. Lincei », ser. VIII, in press.
 GOOD R. A., CAIN W. A., PEREY D. Y., DENT P. B., MEUWISSEN H. I., RODEY G. E. e COOPER M. D. (1969) - In *Lymphatic tissue and germinal centers in immune response*, L. Fiore-Donati e M. G. Hanna Eds., Plenum Press, New York, p. 83.
 LEENE W. (1972) - « Z. Zellforsch. », 134, 65.
 LEENE W., DUYZINGS M. G. M. e VAN STEEG C. (1973) - « Z. Zellforsch. », 136, 521.
 PARROTT D. M. V., e DE-SOUSA M. A. B. (1966a) - « Nature », 212, 1316.
 PARROTT D. M. V., DE-SOUSA M. A. B. e EAST J. (1966b) - « J. Exp. Med. », 123, 191.
 PETERSON R. D. A., COOPER M. D. e GOOD R. A. (1965) - « Am. J. Med. », 38, 579.
 WARNER N. L. e SZEMBERG A. (1962a) - « Nature », 196, 784.
 WARNER N. L., SZEMBERG A. e BURNET F. M. (1962b) - « Australian J. Exp. Biol. and M. Sc. », 40, 373.
 WARNER N. L. e SZEMBERG A. (1964) - In *The thymus in immunobiology*, R. A. Good e A. E. Gabrielsen Eds., New York, p. 395.

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE I-III

TAVOLA I

- Fig. 1. - Sezione di borsa di Fabrizio di un pulcino totalmente irradato, 1 giorno dopo trattamento con raggi X. Sono presenti numerosi linfociti picnotici. $\times 570$.
 Fig. 2. - Sezione di borsa di Fabrizio, fissata 20 gg. dopo irradiazione totale. I linfociti picnotici non sono ancora scomparsi; presenti alcune mitosi. $\times 890$.
 Fig. 3. - Sezione di timo di pulcino sottoposto a totale irradiazione del corpo, 1 giorno dopo. Si nota la presenza di alcuni linfociti danneggiati e di notevoli fenomeni ipermici. $\times 890$.
 Fig. 4. - Sezione di timo di pulcino totalmente irradato, dopo 2 gg. Rarefazione cellulare e vasodilatazione. $\times 540$.

TAVOLA II

- Fig. 5. – Sezione di borsa di Fabrizio di pulcino sottoposto ad irradiazione con timo protetto, 1 giorno dopo. Si notano alcuni linfociti picnotici e cellule linfocitiche in attività mitotica. $\times 830$.
- Fig. 6. – Sezione di borsa di Fabrizio di pulcino irradiato con timo protetto, 8 gg. dopo. Assenti i linfociti picnotici. $\times 570$.
- Fig. 7. – Sezione di borsa di Fabrizio di pulcino irradiato con timo schermato, 20 gg. dopo $\times 570$.
- Fig. 8. – Sezione di borsa di Fabrizio di pulcino irradiato con borsa protetta, 15 gg. dopo. Presenti numerose mitosi. $\times 540$.

TAVOLA III

- Fig. 9. – Sezione di timo di pulcino sottoposto ad irradiazione con la borsa di Fabrizio schermata, 1 giorno dopo. Notevole iperemia. $\times 890$.
- Fig. 10. – Sezione di timo di pulcino irradiato con la borsa protetta, 2 gg. dopo. $\times 540$.
- Fig. 11. – Sezione di borsa di Fabrizio di pulcino irradiato con la borsa schermata, 1 giorno dopo. $\times 830$.
- Fig. 12. – Sezione di borsa di Fabrizio di pulcino irradiato con borsa schermata, 2 gg. dopo. $\times 540$.

