
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

GIANCARLO GIBERTINI, NICOLA CATALINI, CLAUDIO
CONTI

**Trapianti omoplastici di pelle in giovani pulcini di
Gallus domesticus (razza Wyandotte) in seguito a
bursectomia e timectomia chirurgica**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 59 (1975), n.3-4, p.
279-286.*

Accademia Nazionale dei Lincei

<http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1975_8_59_3-4_279_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/>

SEZIONE III

(Botanica, zoologia, fisiologia e patologia)

Biologia. — *Trapianti omoplastici di pelle in giovani pulcini di Gallus domesticus (razza Wyandotte) in seguito a bursectomia e timectomia chirurgica* (*). Nota (**) di GIANCARLO GIBERTINI, NICOLA CATALINI e CLAUDIO CONTI, presentata dal Socio A. STEFANELLI.

SUMMARY. — Homoplastic skin transplantations were effected on 8-day-chickens of *Gallus domesticus* (Wyandotte race). The animals were divided into the following groups according to the type of treatment to which they were submitted: group I received skin homotransplant, group II was bursectomized before skin homotransplant, group III was thymectomized before skin homotransplant, group IV was thymo- and bursectomized before skin homotransplant. The technique of surgical bursectomy and thymectomy operations were related. The transplanted skin in thymectomized chickens showed an average time of survival longer than that of the skin in the chickens which had been bursectomized. This and the other observations suggest that only the thymus plays a role in the immunological reaction taking place after skin homotransplantations.

La borsa di Fabrizio, per il fatto di costituire una peculiare struttura linfoide, riscontrabile soltanto nella Classe degli Uccelli e per la sua discreta sovrapponibilità istologica con il timo, ha richiamato l'interesse dei ricercatori sia da un punto di vista isto-embriologico (Alegiani *e coll.*, 1972; Gibertini *e coll.*, 1973, 1974; Ackerman 1962; Ackerman e Knouff, 1964 *a*, Bockman e Cooper, 1973; Hoffman *e coll.*, 1972; Oates *e coll.*, 1972) sia per l'attività linfopoietica (Ackerman e Knouff 1959, 1964 *b*), sia in riferimento alla risposta immunitaria (Glick *e coll.* 1956; Aspinall e Meyer, 1964; Good *e coll.*, 1969; Blomgren e Anderson, 1969; Durkin *e coll.*, 1972; Zaccheo *e coll.*, 1969).

Dal momento che abbiamo messo a punto due metodi di asportazione chirurgica, uno per il timo e l'altro per la borsa di Fabrizio, che permettono, contrariamente alle indicazioni bibliografiche finora riportate, la totale sopravvivenza degli animali operati, ci è sembrato interessante utilizzare tali tecniche per indagare il ruolo del timo e della borsa di Fabrizio nella reazione da omotrapianti, in giovani pulcini.

MATERIALE E METODI

Sono stati usati 80 pulcini di *Gallus domesticus*, di razza Wyandotte, di 8 giorni di età, di entrambi i sessi, che sono stati suddivisi nei seguenti lotti sperimentali:

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

(**) Pervenuta all'Accademia il 29 settembre 1975.

- lotto I: (20 pulcini) questi animali venivano sottoposti a trapianti omoplastici di un lembo di pelle, prelevato dalla regione addominale del donatore, e posto sul fianco sinistro dell'ospite non operato;

- lotto II: (20 pulcini) trapianti omoplastici di un lembo di pelle, prelevato dalla regione addominale del donatore, e posto sul fianco sinistro dell'ospite 24 ore dopo la bursectomia chirurgica;

- lotto III: (20 pulcini) trapianti omoplastici di un lembo di pelle, prelevato dalla regione addominale del donatore, e posto sul fianco sinistro dell'ospite 24 ore dopo la timectomia chirurgica;

- lotto IV: (20 pulcini) trapianti omoplastici di un lembo di pelle, prelevato dalla regione addominale del donatore, e posto sul fianco sinistro dell'ospite, 24 ore dopo bursectomia e timectomia chirurgiche.

Per quanto riguarda la tecnica operatoria di asportazione chirurgica della borsa, l'animale veniva posto su un tavolo operatorio, tenuto fermo in posizione prona, con la regione cloacale verso l'operatore e sotto leggera anestesia con cloroformio. Previa pulizia della zona di operazione, mediante alcool a 70°, veniva praticata un'incisione orizzontale, immediatamente al di sopra dell'orifizio cloacale, quindi la borsa visibile subito dopo l'incisione, veniva afferrata con pinzette a punte tonde zigrinate, portata all'esterno e quindi liberata dai legamenti di connessione mediante forbicine da iridectomia, facendo attenzione a non danneggiare la parete della cloaca. Al termine dell'operazione la ferita veniva suturata mediante punti con filo di seta.

L'operazione di timectomia veniva effettuata ponendo il pulcino sul tavolo operatorio, in posizione supina e con la testa rivolta verso l'operatore. Dopo leggera anestesia con cloroformio, veniva praticata la pulizia del collo mediante alcool a 70° e quindi praticata un'incisione mediana ventrale della pelle del collo, a partire dall'inizio dell'ingluvie e fino al siringe. Si procedeva quindi allo scollamento del derma dal rimanente tessuto, per mettere in evidenza i diversi noduli timici da entrambi i lati del collo. Una volta isolati, i noduli venivano asportati mediante pinzette da orologiaio, facendo attenzione a non provocare danni alle vene giugulari. Al termine dell'operazione, i due lembi della pelle del collo venivano fatti combaciare e suturati mediante filo di seta.

Durante le operazioni di bursectomia non si sono mai verificati fenomeni emorragici, presenti invece talora, anche se scarsamente, durante alcuni casi di timectomia, senza tuttavia dare esito mortale.

Gli animali venivano sacrificati durante i seguenti stadi di fissazione: dopo 5-10-15-20-30 giorni dal momento dell'operazione ed in numero di 5 per ogni stadio e per ogni lotto. Oltre al trapianto, di ogni pulcino venivano fissati il timo o la borsa, nei lotti in cui erano presenti. Il materiale, fissato in Bouin, colorato con Emallume-eosina ed Azan, veniva sezionato a 7 micron.

DESCRIZIONE DEI RISULTATI

Omotrapianti semplici di controllo (lotto I):

– dopo 5 gg.: in tutti i casi esaminati si è notato una discreta sovrapposibilità del quadro istologico. In genere lo strato epidermico si presenta uniforme e continuo, lo strato corneo è ben visibile. Sono presenti alcune cellule in attività mitotica a livello dell'epidermide, dove solo raramente è possibile rilevare dei vacuoli di dimensioni notevoli. Nello strato sottostante, accanto a cellule e ad altre in mitosi si riscontrano alcuni linfociti, un iniziale fenomeno di vasodilatazione e numerosi « centri » comprendenti nel loro interno sia cellule linfocitiche che globuli rossi. Queste formazioni si presentano, talora in misura maggiore o minore, circondate da una capsula membranosa, costituita da elementi cellulari di tipo epiteliale e fibre elastiche. Gli spazi vacuolari, già incontrati nello strato epiteliale, aumentano per numero e dimensioni nel derma. Sempre nel derma sono presenti formazioni di tipo cistico, con cellule epiteliali all'esterno e materiale degenerato nel loro interno. Spesso si nota la presenza di aggregati cellulari che si riuniscono a formare figure di tipo sferico. A questo stadio, nonostante le diverse formazioni descritte, la presenza di alcuni linfociti ed una, anche se lieve vasodilatazione, non si può parlare di vera infiltrazione linfocitica.

– dopo 10 gg.: lo strato epidermico si presenta in alcuni punti assottigliato, in altri abbastanza ispessito e sono visibili spazi vacuolari. È presente, anche nello strato dermico, una certa rarefazione cellulare. Il numero delle cellule linfocitiche risulta superiore rispetto a quello riscontrato 5 gg. dopo il trapianto. Sono in aumento i « raggruppamenti linfocitici » ed è possibile notare la presenza di formazioni di tipo cistico.

– dopo 20 gg.: tutto lo strato epidermico, estremamente assottigliato, ha uno spessore piccolissimo. Il follicolo presenta una morfologia notevolmente alterata, sono evidenziabili numerose zone vacuolari, mentre l'infiltrazione linfocitica diventa massiccia.

– dopo 30 gg.: nei casi esaminati, in generale il quadro istologico si presenta notevolmente anomalo; sono pressoché assenti i follicoli, quei pochi visibili presentano una struttura del tutto irregolare. Sia lo strato epidermico che quello del derma appaiono ridotti, è presente rarefazione cellulare e si riscontrano numerosi linfociti infiltrati sia isolati che concentrati in ammassi localizzati soprattutto a livello dello strato dermico. Si notano altresì molte formazioni caratterizzate da un particolare raggruppamento cellulare tendente a formare una struttura geometrica sferoidale.

Omotrapianti dopo burssectomia (lotto II):

– dopo 5 gg.: nei cinque casi esaminati si nota una certa uniformità di struttura istologica, con lo strato epidermico pluristratificato e cellule in atti-

vità mitotica. I follicoli delle penne presentano la morfologia tipica. Solo in un caso si nota, nello strato del derma, un certo numero di globuli rossi all'interno di vasi notevolmente dilatati.

- dopo 10 gg.: i confini cellulari tra strato epidermico e del derma non risultano sempre ben evidenti e, comunque, lo strato epidermico si presenta notevolmente assottigliato. Nel derma si notano assai numerosi linfociti, spesso raggruppati in formazioni compatte isolate. In un caso si ritrovano quelle formazioni sferiche, che presentano l'aspetto di ammassi di detriti cellulari.

- dopo 20 gg.: si nota soprattutto una certa discontinuità a livello dello strato epidermico. Nella maggior parte dei casi esaminati si riscontrano formazioni peculiari di tipo sferico con detriti cellulari ed in tutti i casi notevole infiltrazione linfocitica, che in un caso ha invaso completamente tutto il trapianto. Presente, inoltre, rarefazione cellulare.

Omotrapianti dopo timectomia (lotto III):

- dopo 5 gg: nei casi esaminati sia lo strato epidermico che quello dermico del trapianto, presentano un aspetto morfo-istologico sovrapponibile a quello della pelle normale. Non si nota infatti né rarefazione cellulare, né vasodilatazione, né infine, infiltrazione linfocitica.

- dopo 10 gg.: l'epidermide risulta normale con cellule in mitosi, tuttavia fanno la loro comparsa alcune formazioni non ancora perfettamente delineate, ma che sembrano preludere a quelle tipiche già descritte come formazioni cistiche. Non si notano agglomerati linfocitici. Si riscontrano, invece, globuli rossi all'interno di alcuni vasi leggermente ingrossati.

- dopo 20 gg.: il fenomeno di maggior rilievo, in tutti i casi esaminati, riguarda l'iperemia. A parte questa vasodilatazione e, in un caso, l'inizio di fenomeni di infiltrazione linfocitica, il quadro istologico generale, si presenta abbastanza normale.

Omotrapianti dopo bursectomia e timectomia (lotto IV):

- dopo 15 gg.: in tutti i casi esaminati il trapianto presenta un quadro istologico sovrapponibile a quello normale, dal momento che, sia nello strato epidermico che dermico, non si riscontrano linfociti infiltrati, né fenomeni iperemici, né formazioni di tipi cistico e si possono notare cellule in discreta attività mitotica.

DISCUSSIONE

I risultati ottenuti in questa ricerca e riassunti nella tabella confermano il presupposto iniziale dell'indagine, in base al quale il timo e la borsa di Fabrizio si configurerebbero in un diverso ruolo immunologico. Infatti, nel caso di

TABELLA

Tipo di trattamento	Caso	Tempo dopo trattamento (giorni)				
		5	10	20	30	15
Omotrapianto	1	+	+ —	— —	— —	
	2	+ +	+ —	— —	— —	
	3	+ +	—	— —	— —	
Omotrapianto + bursectomia	1	+ +	—	— —		
	2	+	+ —	—		
	3	+	+ —	—		
	4	+	+ —			
	5	+	+ —			
Omotrapianto + timectomia	1	+ +	+	+ —		
	2	+ +		+ —		
	3			+		
Omotrapianto + bursectomia + timectomia	1					+ +
	2					+ +
	3					+ +

+ + : molto bene; + : bene; + — : non bene; — : male; — — : molto male.

reazione da omotrapianti semplici già a partire dal 10° giorno, il quadro istologico del trapianto stesso è tutt'altro che normale. A 20 giorni il trapianto è completamente degenerato ed invaso di linfociti.

Nel caso di omotrapianti nei pulcini bursectomizzati, la sopravvivenza del trapianto è simile a quella dei pulcini sottoposti a semplici trapianti, cominciando l'infiltrazione linfocitica a partire dal 10° giorno e risultando il trapianto al 20° giorno notevolmente danneggiato.

Nel lotto di animali timectomizzati il trapianto presenta un aspetto migliore, dal momento che a 10 giorni l'unico caso esaminato sta bene e a 20 giorni, pur essendo evidenziabili danni istologici, il trapianto non è degenerato.

Nei pulcini operati di timectomia e bursectomia associate, nell'unico stadio di fissazione (3 casi a 15 giorni) i trapianti non mostrano segni di danneggiamento.

Concludendo si può affermare che, per riuscire a mettere meglio in evidenza la differente influenza del timo e della borsa, è preferibile effettuare

gli interventi operativi in età più precoce, possibilmente intorno alla schiusa (esperimenti in questo senso sono già in corso nel nostro laboratorio); e che, comunque a giudicare dall'effetto dell'asportazione del timo, che ritarda il rigetto dei trapianti, sembrerebbe che quest'organo, negli Uccelli, espliciti un ruolo nella reazione immunitaria da omotraspianti di pelle, mentre la borsa non avrebbe importanza nella produzione di anticorpi circolanti, come supposto da alcuni Autori (Glick, 1955; Chang *e coll.*, 1955; Mueller *e coll.*, 1962; Wolfe *e coll.*, 1962; Challey 1962; Aspinall *e coll.*, 1962).

Infine il tempo relativamente breve di sopravvivenza media del trapianto negli animali timectomizzati, secondo noi starebbe a significare che nei pulcini il timo cominci a funzionare prima della schiusa, oppure che qualche altro organo (o tessuto) partecipi, insieme al timo, nel ruolo di immunità da trapianti.

BIBLIOGRAFIA

- ACKERMAN G. A. e KNOUFF R. A. (1959) - « Am. J. Anat. », 104, 163.
 ACKERMAN G. A. (1962) - « J. Cell Biol. », 13, 127.
 ACKERMAN G. A. e KNOUFF R. A. (1964 a) - « Anat. Rec. », 149, 191.
 ACKERMAN G. A. e KNOUFF R. A. (1964 b) - In Good R. A. and Gabrielsen A. E. (eds.), *The Thymus in Immunobiology*, N. Y., Harper and Row, p. 123.
 ALEGIANI C. R., CATALINI N. e GIBERTINI G. (1972) - « Riv. Biol. », 65, 111.
 ASPINALL R. L., MEYER R. K., GRAETZER M. A. e WOLFE H. R. (1963) - « J. Immunol. », 90, 872.
 ASPINALL R. L. and MEYER R. K. (1964) - In Good R. A. and Gabrielsen A. E. (eds.), *The Thymus in Immunobiology*, N. Y., Harper and Row, p. 376.
 BLOMGREN H. e ANDERSON B. (1969) - « Exp. Cell. Res. », 57, 185.
 BOCKMAN D. E. e COOPER M. D. (1973) - « Am. J. Anat. », 136, 455.
 CHALLEY J. (1962) - « J. Parasitol. », 48, 352.
 CHANG T. S., GLICK B. e WINTER A. P. (1955) - « Poultry Sc. », 34, 1187.
 DURKIN H. G., THEIS G. A. e THORBECKE G. J. (1972) - « Nature New Biol. », 235, 118.
 GIBERTINI G., PELOSI A. e CATALINI N. (1973) - « Rend. Accad. Naz. Lincei », ser. VIII, 55, 592.
 GIBERTINI G., CAMPANELLI E. e CATALINI N. (1974) - « Rend. Accad. Naz. Lincei », ser. VIII, 56, 1023.
 GLICK B. (1955) - Doctoral dissertation, Ohio State University 1955.
 GLICK B., CHANG R. S. e JAAP R. G. (1956) - « Poultry Sc. », 35, 224.
 GOOD R. A., CAIN W. A., PEREY D. Y., DENT P. B., MEUWISSEN H. J., RODEY G. E. e COOPER M. D. (1969) - In Fiore-Donati L. and Hanna Jr. M. G. (eds.), *Proc. Second Inter. Conf. Germinal Centers of Lymphatic Tissue*, N. Y., Plenum Press, p. 33.
 HOFFMAN-FEZER G. e LADE R. (1972) - « Z. Zellforsch. », 124, 406.
 MUELLER A. P., WOLFE H. R., MEYER R. K. e ASPINALL R. L. (1962) - « J. Immunol. », 88, 354.
 OATES C. M., BISSENDEN J. F., MAINI R. N., PAYNE L. N. e DUMONDE D. C. (1972) - « Nature New Biol. », 239, 137.
 WOLFE H. R., CARROLL M. A. e COTE W. P. (1962) - « Fed. Proc. », 21, 22.
 ZACCHEO D., GROSSI C. E. e GENTA V. (1969) - « Acta anatomica », 75, suppl. 56, 444.

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE I-III

TAVOLA I

- Fig. 1. - Omotrapianti di pelle fissati 30 giorni dopo l'operazione. È evidente una notevole infiltrazione linfocitica ed una mancanza di organizzazione sia dello strato epidermico che del derma. Colorazione: emallume-eosina. 1040×.
- Fig. 2. - Omotrapianti di pelle fissati 10 giorni dopo l'operazione. Si nota un grosso ammasso infiltrato linfocitico. Colorazione: emallume-eosina. 1040×.
- Fig. 3. - Omotrapianti di pelle fissati 10 giorni dopo l'operazione. È presente una certa rarefazione cellulare nello strato epidermico, mentre il derma risulta disorganizzato e fortemente infiltrato di linfociti. Colorazione: emallume-eosina. 560×.
- Fig. 4. - Omotrapianti di pelle fissati 5 giorni dopo bursectomia chirurgica. Sono presenti fenomeni di iperemia. Colorazione: emallume-eosina. 1040×.

TAVOLA II

- Fig. 5. - Omotrapianti di pelle fissati 10 giorni dopo bursectomia chirurgica. Epidermide assottigliata e presenza di linfociti nel derma. Colorazione: emallume-eosina. 1040×.
- Fig. 6. - Omotrapianti di pelle fissati 20 giorni dopo bursectomia chirurgica. Evidente vasodilatazione. Colorazione: emallume-eosina. 1040×.
- Fig. 7. - Omotrapianti di pelle fissati 5 giorni dopo timectomia chirurgica. Non sono evidenti notevoli alterazioni istologiche. Colorazione: emallume-eosina. 1040×.
- Fig. 8. - Omotrapianti di pelle fissati 5 giorni dopo timectomia chirurgica. Si riscontra la presenza di formazioni inglobanti linfociti picnotici (freccie). Colorazione: emallume-eosina. 1040×.

TAVOLA III

- Fig. 9. - Omotrapianti di pelle fissati 10 giorni dopo timectomia chirurgica. Non si notano agglomerati linfocitici. Mitosi a livello dell'epidermide (freccie). Colorazione: emallume-eosina. 1040×.
- Fig. 10. - Omotrapianti di pelle fissati 20 giorni dopo timectomia chirurgica. Si nota una certa iperplasia (freccia) a carico dello strato epidermico. Colorazione: emallume-eosina. 1040×.

- Fig. 11. - Omotrapianti di pelle fissati 15 giorni dopo bursectomia e timectomia chirurgica. È evidente il follicolo della penna di aspetto normale. Colorazione: emallume-eosina. 1040×.
- Fig. 12. - Omotrapianti di pelle fissati 15 giorni dopo bursectomia e timectomia chirurgica. Il derma, sebbene non organizzato, non ha linfociti infiltrati. Colorazione: emallume-eosina. 1040×.





