
ATTI ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
CLASSE SCIENZE FISICHE MATEMATICHE NATURALI
RENDICONTI

GIANCARLO GIBERTINI, NICOLA CATALINI

**Studio comparativo dell'azione delle radiazioni
ionizzanti e dei radiomimetici sulla fase involutiva e
di recupero del timo di giovani ratti (*Rattus
norvegicus* Erxl.). - I. Effetto deiraggi X (LD 50/30)**

*Atti della Accademia Nazionale dei Lincei. Classe di Scienze Fisiche,
Matematiche e Naturali. Rendiconti, Serie 8, Vol. 53 (1972), n.5, p. 486-491.*
Accademia Nazionale dei Lincei

http://www.bdim.eu/item?id=RLINA_1972_8_53_5_486_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 dell'azione delle radiazioni ionizzanti e dei radiomimetici sulla fase involutiva e di recupero del timo di giovani ratti (*Rattus norvegicus* Erxl.). - I. Effetto dei raggi X (LD 50/30) (*). Nota di GIANCARLO GIBERTINI e NICOLA CATALINI, presentata (**) dal Socio A. STEFANELLI.*

SUMMARY. — The effect of a single irradiation of X-rays on the thymus of young rats was studied. The thymic involution and recovery has been investigated by checking weight, morphology and histology. An early and severe histological damage was observed as well as the occurrence of a mitotic block within the first hours following irradiation. The mitotic activity is re-established shortly after.

Dai primi lavori di Gilman e Philips (1946), di Boyland (1948) e di Philips (1950), che attraverso studi farmacologici cercarono di indagare e comparare l'effetto di alcuni agenti fisici e chimici, si è recentemente manifestato un rinnovato interesse nello studio comparativo degli effetti biologici dei raggi X e dei radiomimetici, sempre al fine di confrontarne il loro meccanismo d'azione. Tali ricerche sono state condotte particolarmente sul sistema linfoide, a causa dell'elevata sensibilità esibita da questo tessuto in seguito a trattamento (Koller e Casarini 1952; Revell 1953; Hampton e Quastler 1958; Alexander e Stacey 1959; Barer e Joseph 1960; Alexander 1961; Alexander e Mikulski 1961 a, 1961 b; Galton 1961; Koller 1961; Quastler e Hampton 1962; Berry 1964; Castro *e coll.*, 1966; Mauro e Elkind 1967). Dal momento che avevamo effettuato un'indagine preliminare seguendo l'effetto dei raggi X e dell'iprite sul timo di giovani ratti (Catalini *e coll.*, 1971), abbiamo ritenuto interessante estendere tale ricerca, confrontando, sempre sullo stesso materiale, l'azione di dosi LD 50 di raggi X, iprite ed azotoiprite.

MATERIALE E METODI

Sono stati usati 98 ratti Wistar (*Rattus norvegicus* Erxl.), di sesso maschile, di 30 giorni di età e del peso di circa 80 grammi.

Gli animali sono stati suddivisi nei seguenti gruppi:

- Gruppo I (49 ratti): questi animali hanno ricevuto un'irradiazione totale del corpo con raggi X (LD_{50/30} = 650 r).
- Gruppo II (49 ratti): questi animali sono stati usati come controllo senza nessun trattamento.

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

(**) Nella seduta dell'11 novembre 1972.

Le costanti fisiche dell'irradiazione erano: apparecchio Gilardoni a 180 KV, 6 mA, filtro da 3 mm Al, distanza focale 40 cm, intensità 50 r/min misurata in aria con dosimetro Gilardoni.

Tutti gli animali, prima del trattamento, venivano anestetizzati con Nembutal (0,5 ml/Kg).

Gli animali venivano sacrificati dopo 8 ore e 1, 2, 3, 5, 8, 10, 15, 20 e 30 giorni dall'inizio dell'esperimento, in numero di cinque per ogni gruppo.

In ciascun preparato istologico di timo, per ogni stadio di fissazione, venivano contati 1200 linfociti, comprendendo in questi sia quelli picnotici che quelli in mitosi.

DESCRIZIONE DEI RISULTATI

Effetto sul peso corporeo dei ratti: in seguito a trattamento con raggi X, la diminuzione del peso corporeo dei ratti sperimentali rispetto ai controlli diviene significativa a partire dal 3° giorno e si mantiene tale fino al termine dell'esperimento.

Effetto sulle variazioni ponderali del timo: si riscontra una differenza significativa tra il peso del timo dei controlli e quello dei ratti irradiati (diminuzione ponderale) a partire dal 2° giorno post-irradiazione e fino al 30° giorno; il valore ponderale più basso viene raggiunto al 3° giorno e comunque il peso di quest'organo, anche al 30° giorno, continua a mantenersi sensibilmente basso rispetto ai valori riscontrabili nei controlli (Tabelle I e II).

TABELLA I.

Tempo dopo trattamento	ANIMALI TRATTATI CON RAGGI X (650 r)				
	Animali sacrificati (n.)	Peso medio (g)	T I M O		
			Peso medio (mg)	Linfociti	
				Picnosi (%)	I.M. (%)
8 ore	5	69,6 ± 3,8	171,6 ± 66,5	63,08 ± 1,75	0,17 ± 0,11
1 giorno	5	81,4 ± 9,8	119,6 ± 24,0	60,25 ± 18,21	0,20 ± 0,11
2 giorni	5	81,0 ± 7,1	55,0 ± 14,1	0,28 ± 0,11	0,85 ± 0,42
3 giorni	5	66,0 ± 9,1	38,8 ± 5,8	0	1,30 ± 0,17
5 giorni	5	72,4 ± 13,4	66,0 ± 50,7	0	3,52 ± 0,16
8 giorni	5	83,6 ± 25,9	102,8 ± 48,8	0	3,10 ± 0,94
10 giorni	5	77,4 ± 20,0	107,6 ± 90,0	0	3,07 ± 0,57
15 giorni	5	84,2 ± 19,6	105,8 ± 61,3	0	2,77 ± 1,11
20 giorni	5	102,0 ± 20,7	188,2 ± 107,1	0	2,51 ± 1,36
30 giorni	4	101,7 ± 25,3	137,7 ± 87,0	0	2,70 ± 2,27

TABELLA II

Tempo dopo trattamento	ANIMALI DI CONTROLLO				
	Animali sacrificati (n.)	Peso medio (g)	T I M O		
			Peso medio (mg)	Linfociti	
				Picnosi (%)	I.M. (%)
8 ore	5	78,1±10,5	206,0± 90,0	(*)	(*)
1 giorno	5	81,2±12,5	205,4± 92,5	o	3,08±0,39
2 giorni	5	90,4±10,1	254,6± 88,0	(*)	(*)
3 giorni	5	89,8± 3,8	297,4±151,8	(*)	(*)
5 giorni	5	110,0±13,3	343,2± 63,1	o	2,88±0,22
8 giorni	5	130,4±10,5	347,8± 99,2	(*)	(*)
10 giorni	5	125,6±36,1	378,2±192,0	o	2,87±0,56
15 giorni	5	122,2±13,9	374,0± 79,7	o	3,07±0,89
20 giorni	5	128,4±23,8	433,2±118,6	o	2,75±0,33
30 giorni	4	151,5±12,6	452,2±140,6	o	2,17±0,98

(*) Non effettuato.

Modificazioni istologiche e morfologiche del timo: dopo 8 ore, nonostante l'elevato numero di linfociti picnotici rimangono ancora distinte le due regioni timiche, la corticale e la midollare. Si nota una notevole vasodilatazione e la regione corticale risulta più carica di linfociti picnotici e ne è, in pratica, quasi del tutto invasa. La zona midollare, invece, pur presentando cellule linfocitiche colpite da radiazioni, è meno danneggiata nel suo insieme e si possono notare linfociti in buono stato e cellule reticolari epiteliali prive di danno. Rarissime appaiono le cellule in attività mitotica, comunque quasi sempre localizzate a livello della porzione corticale. Non sono stati riscontrati macrofagi (Tav. I, fig. 2).

Dopo 1 giorno, il quadro istologico generale non cambia sensibilmente, rispetto allo stadio precedente; in particolare, per quanto riguarda la zona midollare, essa presenta, in notevole grado, una rarefazione cellulare e i corpuscoli di Hassall che vi si riscontrano presentano dimensioni apprezzabilmente maggiori rispetto ai controlli. Fanno la loro comparsa alcune cellule macrofagiche, ripiene di detriti nucleari. Pressochè assenti le figure mitotiche (Tav. II, fig. 3).

Dopo 2 giorni, l'aspetto istologico è assai cambiato, dal momento che solo raramente sono riscontrabili linfociti picnotici; la regione corticale si presenta ancora maggiormente danneggiata e più numerosi si contano i macrofagi. Leggermente aumentata risulta l'attività mitotica cellulare, anche se i suoi valori continuano a mantenersi significativamente al disotto della media dell'attività dei controlli. Comunque, a questo punto, non è più così netta la distinzione tra le due regioni del timo (Tav. II, fig. 4).

Dopo 3 giorni, il dato istologico di maggior rilievo è che a questo stadio non si riscontrano più linfociti picnotici in entrambe le zone del timo. Ancora non si è però ristabilita la giusta proporzione tra la regione corticale e midollare, presentando la prima una discreta rarefazione linfocitica. I macrofagi, seppure ridotti di numero, continuano ad essere presenti. L'indice mitotico risulta pari alla metà circa di quello riscontrato nei timi degli animali di controllo.

Dopo 5 giorni, si può parlare di sovrapposizione, entro certi limiti, tra il quadro istologico del timo di ratti irradiati e di controllo: i macrofagi sono scomparsi e l'attività mitotica risulta in notevole aumento, raggiungendo a questo stadio, il suo incremento massimo (I.M. = 3,52%), superiore anche all'I.M. dei controlli. Ormai non si riscontra più vasodilatazione (Tav. III, fig. 5).

Dopo 8 giorni, le due regioni timiche, tornano ad essere perfettamente distinguibili ed il loro rapporto cellulare è tornato del tutto normale.

Dal 10° al 30° giorno l'aspetto morfologico ed istologico è ormai perfettamente normale (Tav. III, fig. 6).

CONSIDERAZIONI

In seguito a panirradiazione dei ratti con LD_{50/30} di raggi X è stato notato che il peso corporeo degli animali raggiunge la massima diminuzione al 3° giorno e continua a mantenere valori ponderali significativamente più bassi dei controlli fino al 10° giorno dopo trattamento. Per quanto riguarda il peso del timo, gli animali presentano una diminuzione ponderale di questo organo già immediatamente dopo irradiazione, che diventa significativa a partire dal secondo giorno e si mantiene tale fino al termine dell'esperimento. Anche in questo caso il valore ponderale più basso si riscontra al 3° giorno.

Per quanto riguarda la percentuale di linfociti picnotici, il massimo danno linfocitico è stato riscontrato 8 h dopo irradiazione (63%), mentre ad 1 giorno la percentuale è pari al 60% circa. A partire dal secondo giorno dell'esperimento, praticamente non si riscontrano più linfociti picnotici. Inoltre, come già messo in evidenza in precedenti ricerche (Gibertini 1967, 1968 a; Gibertini e Monari, 1968), si è osservato che la regione corticale timica è maggiormente interessata al danno istologico rispetto alla zona midollare.

All'analisi dell'attività mitotica, è risultato che il numero delle mitosi, in rapporto a quello dei controlli, si mantiene particolarmente ridotto fino al 3° giorno dopo irradiazione, mentre si assiste ad una notevole ripresa al

5° giorno, stadio in cui viene raggiunto il valore più alto dell'indice mitotico. Dall'8° giorno e fino al 30°, i valori dell'indice mitotico del timo dei ratti irradiati sono sovrapponibili a quelli dei controlli.

Sono stati osservati numerosi macrofagi durante il 2° e 3° giorno post-irradiazione, sempre contenenti detriti cellulari.

I corpuscoli di Hassall seguono l'andamento già descritto in precedenti lavori (Gibertini, 1968 b), cioè aumentano considerevolmente di volume nel momento in cui si riscontra il maggior numero di linfociti picnotici; dopo di che, le loro dimensioni tornano normali con lo stabilizzarsi del quadro istologico, a carico sia della regione corticale che midollare del timo.

BIBLIOGRAFIA

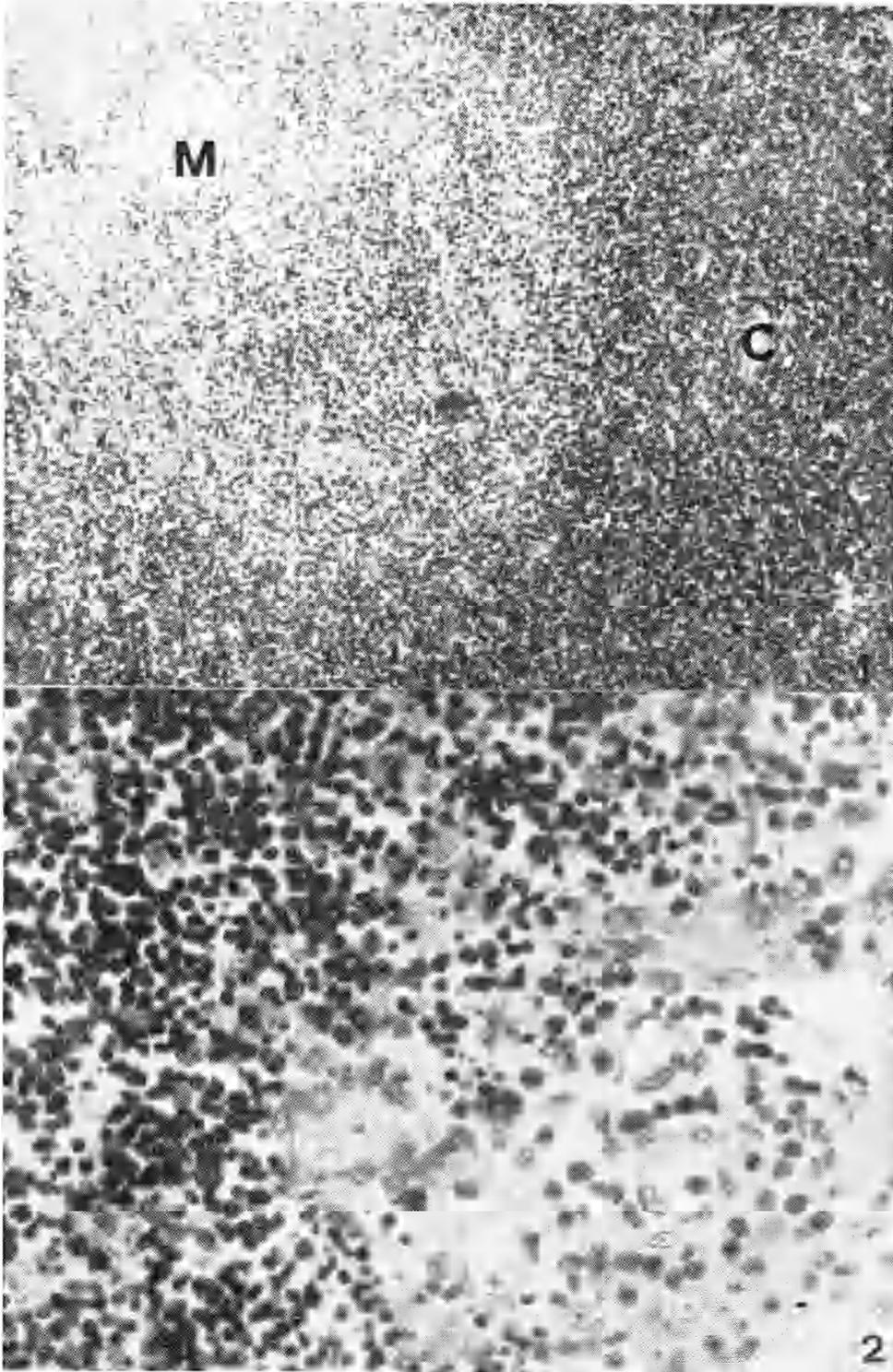
- ALEXANDER P., « Radiobiology » (ed. P.L.T. Ilbery) London Butterworths, 287 (1961).
 ALEXANDER P. e MIKULSKI Z. B., « Biochem. Pharmacol. », 5, 275 (1961 a).
 ALEXANDER P. e MIKULSKI Z. B., « Nature », 192, 572 (1961 b).
 ALEXANDER P. e STACEY K. A., Proc. 4th Int. Congr. Biochem., Pergamon Press, London, 98 (1959).
 BARER R. e JOSEPH S., « Exp. Cell Res. », 19, 51 (1960).
 BERRY R. J., « Nature », 203, 1150 (1964).
 BOYLAND E., « Biochem. Soc. Symp. », 2, 61 (1948).
 CASTRO V. A., FIELD E. O. e DAWSON K. B., « Int. J. Rad. Biol. », 11/5, 513 (1966).
 CATALINI N., GIBERTINI G., MARGOTTA V. e FILONI S., « Rend. Accad. Naz. Lincei », ser. VIII, 51, 86 (1971).
 GALTON D. A. G., « Radiobiology », ed. P. L. T. Ilbery, London Butterworths, 298 (1961).
 GIBERTINI G., « Riv. Biol. », 40, 3 (1967).
 GIBERTINI G., « Rend. Accad. Naz. Lincei », ser. VIII, 44, 477 (1968 a).
 GIBERTINI G., « Riv. Biol. », 61, 273 (1968 b).
 GIBERTINI G. e MONARI C., « Riv. Biol. », 61, 395 (1968).
 GILMAN A. e PHILIPS F. S., « Science », 103, 409 (1946).
 HAMPTON J. C. e QUASTLER H., Proc. 4th Intern. Conference Electron Microscopy, 480 (1958).
 KOLLER P. C., « Radiobiology » (ed. P. L. T. Ilbery) London Butterworths 281 (1961).
 KOLLER P. C. e CASARINI A., « Brit. J. Cancer », 6, 173 (1952).
 LEVIS A. G., « Nature », 198, 498 (1963).
 MAURO F. e ELKIND M. M., « Science », 155, 1561 (1967).
 PHILIPS F. S., « J. Pharm. Exp. Therap. », 99, 281 (1950).
 QUASTLER H. e HAMPTON J. C., « Radiation Res. », 17, 914 (1962).
 REVELL S. H., « Heredity », 107 (6 suppl.) (1953).

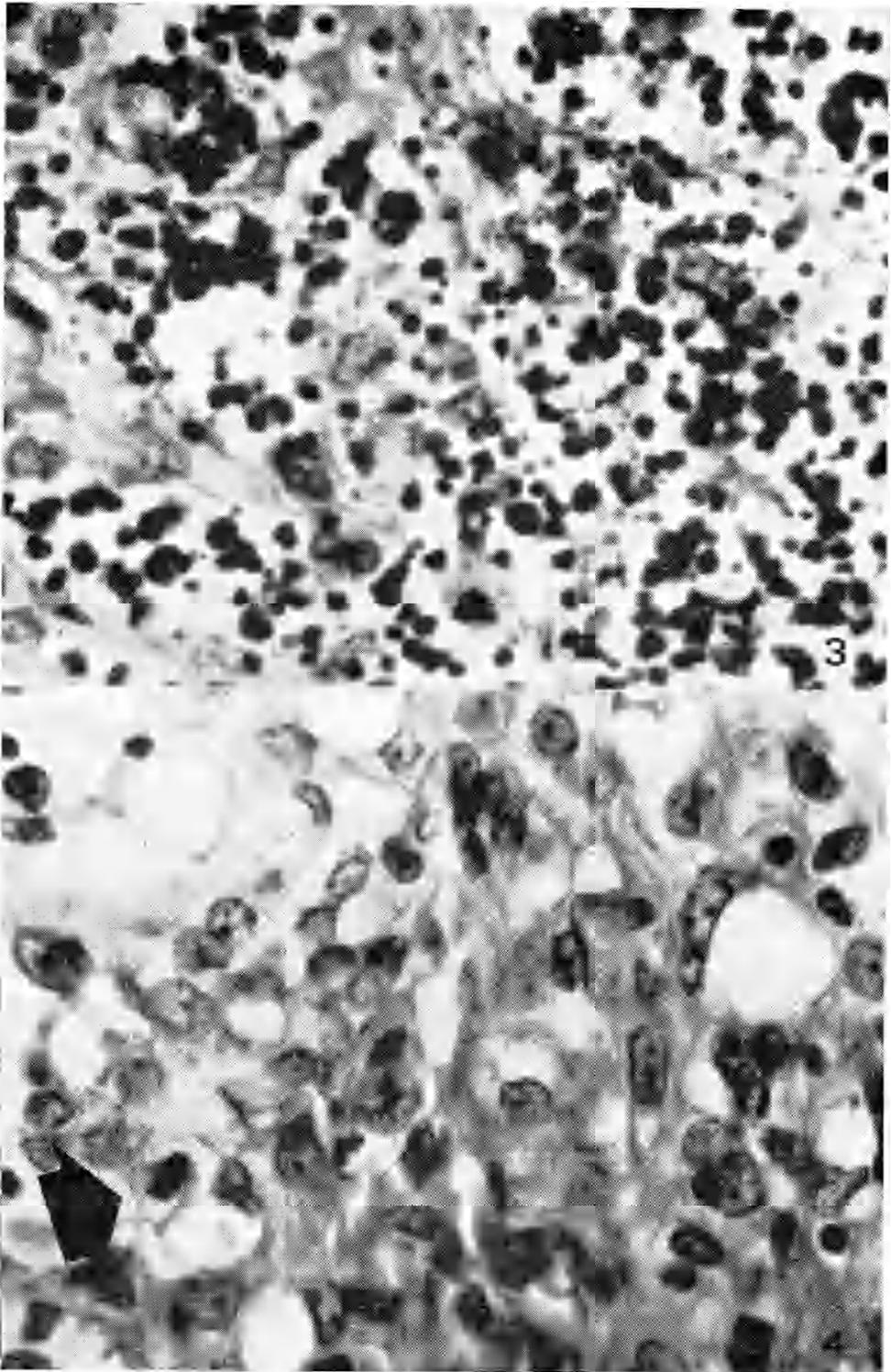
SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE I-III

TAVOLA I

Fig. 1. - Sezione di timo di ratto di controllo. Sono facilmente distinguibili la regione corticale (più densa di linfociti) e quella midollare (più chiara). $\times 180$.

Fig. 2. - Sezione di timo di ratto sacrificato 8 ore dopo irradiazione. Si notano numerosi linfociti picnotici soprattutto localizzati nella regione corticale. $\times 720$.





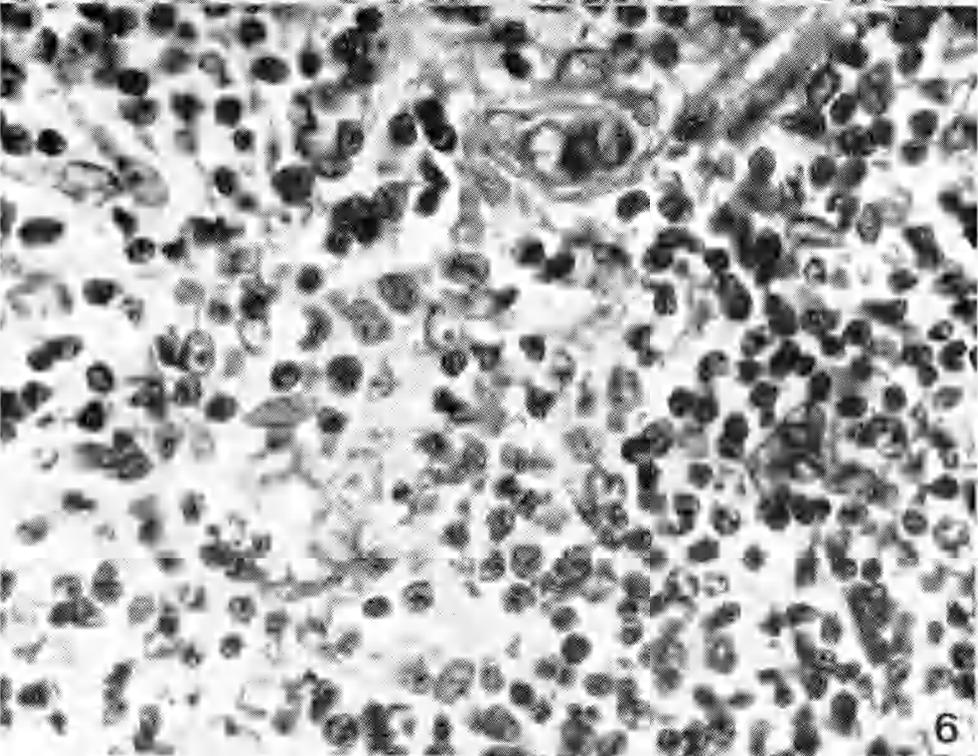
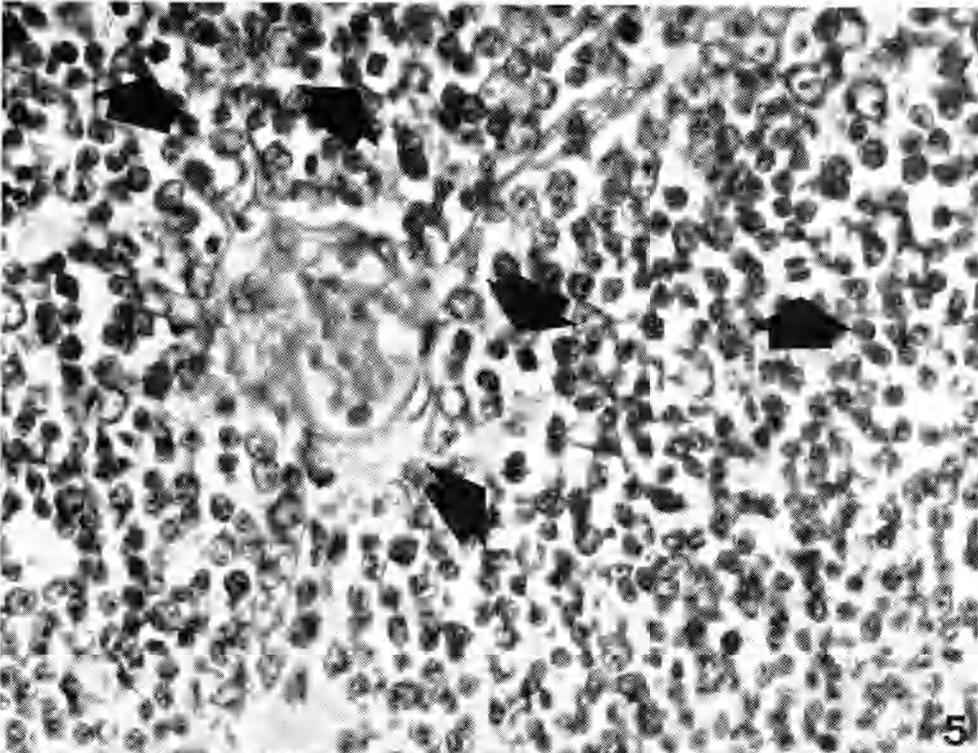


TAVOLA II

- Fig. 3. - Sezione di timo di ratto, 1 giorno dopo trattamento con raggi X. Ancora presenti molti linfociti picnotici, alcuni visibili all'interno di cellule macrofagiche. $\times 1125$.
- Fig. 4. - Sezione di timo di ratto 2 gg. dopo irradiazione. Si nota la scomparsa di linfociti picnotici, rarefazione cellulare e alcune cellule in mitosi. $\times 1125$.

TAVOLA III

- Fig. 5. - Sezione di timo di ratto 5 gg. dopo irradiazione. Si riscontrano numerose cellule in attività mitotica. $\times 720$.
- Fig. 6. - Sezione di timo di ratto, 30 gg. dopo irradiazione. La struttura istologica è del tutto sovrapponibile a quella dei controlli. $\times 900$.