

43. ATTIVITÀ PROGESTATIVA DEL CAMPIONE INTERNAZIONALE DI PROGESTERONE.

La seconda conferenza per la standardizzazione degli ormoni sessuali tenuta a Londra nel luglio 1935 (¹) prese tra le altre le seguenti risoluzioni:

1) L'ormone progestativo cristallino del corpo luteo sia designato nella nomenclatura scientifica col termine di progesterone.

2) Il campione internazionale di ormone progestativo sia costituito da ormone puro cristallizzato in forma di aghi, avente le seguenti caratteristiche: p. f. 121° C. $(\alpha) \frac{20}{D} + 200$ in cloroformio.

3) L'unità internazionale rappresenta l'attività progestativa di 1 mg. della preparazione internazionale.

4) Il criterio preferibile per una determinazione in U.I. sia quella di utilizzare una reazione progestativa.

Successivamente H. Dale (²) rilevando che i cristalli di progesterone possono essere preparati in forma di aghi fondenti a 121° C. e in forma di prismi fondenti a 129° C., ma che questa ultima è molto più stabile, proponeva alla Conferenza che accettava, che il campione standard fosse costituito da progesterone cristallizzato in forma prismatica con p. f. $128,5-129^{\circ}$ C.

I due metodi che per la loro specificità erano raccomandati e che sono attualmente i più seguiti, sono quelli elaborati da Corner e Allen (³) e da Clauberg (⁴).

Il primo metodo utilizza coniglie adulte di 2 kg. di peso, che vengono ovariectomizzate bilateralmente dopo 14-18 ore da un coito che si presuma fecondante con un accertamento microscopico. Subito dopo la castrazione si inocula per via sottocutanea il preparato in esame in 5 giorni. al 6° giorno si sacrificano le coniglie e, con la comune tecnica istologica, si allestiscono preparati di sezioni dell'utero. L'unità di attività biologica Corner è raggiunta quando la mucosa uterina presenta le stesse modificazioni che si hanno nella coniglia normale all'ottavo giorno di gestazione.

Per eseguire il secondo metodo, adottato in questa ricerca, si usano coniglie impuberi del peso di gr. 600-800 provenienti da uno stesso allevamento e tenute a regime di vita uniforme e razionale, le quali ricevono, per via endomuscolare, ciascuna 150 U.I. di una soluzione oleosa di ormone follicolare (alfa follicolina nella forma idrocetonica) frazionate in 6 giorni. L'uso della stessa quantità di benzoato di follicolina si è dimostrato egualmente efficace.

Alcuni sperimentatori inoculano anche 100 U.I. di più, ma è stato visto che questo super-dosaggio non è necessario. L'azione della follicolina su un utero infantile è mostrato dalla fig. 1.

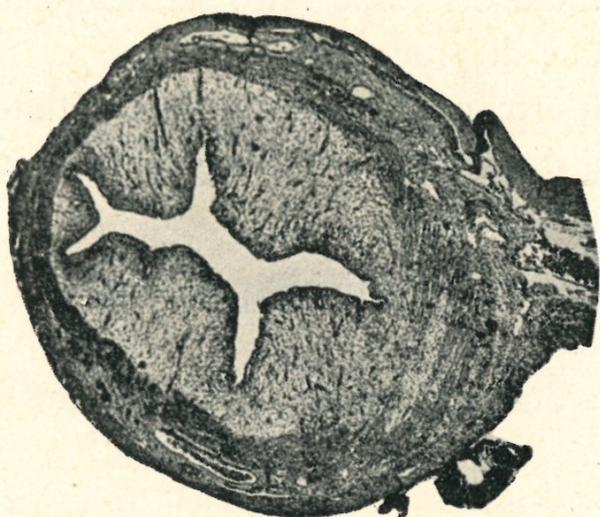


FIG. 1.

Al 7° giorno gli animali vengono divisi in gruppi. Ogni animale del primo gruppo riceve nella muscolatura della coscia, giornalmente e per 6 giorni, cm^3 0,20 di una sol. oleosa che in cm^3 1,20 contenga 1 mg. di progesterone standard e cioè una dose pari ad 1 U.I.

Gli altri gruppi ricevono dosi diverse a seconda delle esigenze della ricerca.

Al 13° giorno si sacrificano gli animali, si tolgono gli uteri e dopo averli fissati in formalina al 10 %, se ne allestiscono con la comune tecnica istologica preparati le cui sezioni vengono colorate con ematossilina ed eosina.

La lettura dei preparati istologici fornisce il criterio di valutazione dell'attività biologica del prodotto tenendo presente i diversi gradi di trasformazione dell'endometrio descritti da Mc. Phail (5). All'inizio della proliferazione gravidica (v. fig. 2) le ghiandole si sviluppano tutte intorno al lume dell'utero e si spingono appena nello stroma (stadio 1). Successivamente (v. fig. 3) le ghiandole aumentano di numero e di lunghezza, ma il parenchima non è invaso (stadio 2). In seguito (v. fig. 4) le ghiandole cominciano a ramificarsi penetrando internamente nel parenchima che diminuisce di estensione (stadio 3). In ultimo (v. fig. 5) le ghiandole invadono quasi completamente il parenchima spingendosi sino allo strato

muscolare, dando all'endometrio un caratteristico aspetto spugnoso (stadio 4). Questo ultimo stadio deve essere considerato come una reazione

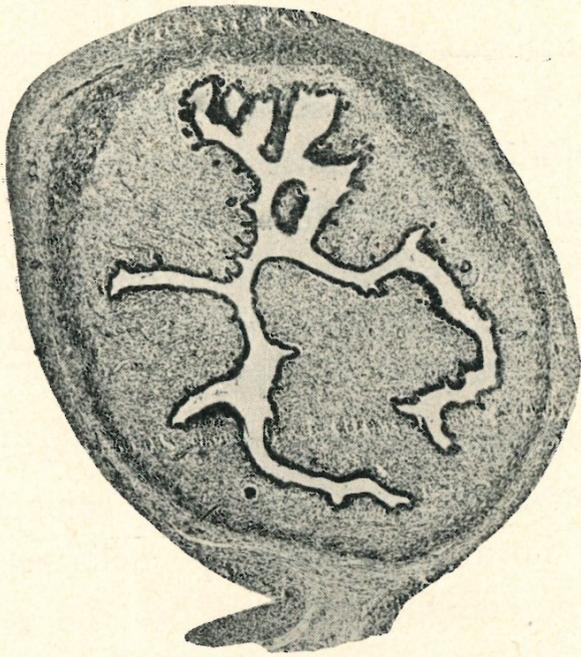


FIG. 2.

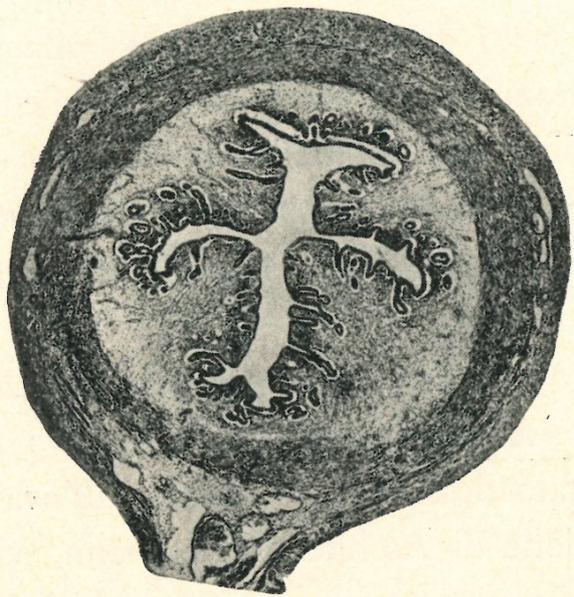


FIG. 3.

progestativa massimale. Le microfotografie riportate sono di preparati istologici eseguiti nel nostro laboratorio.

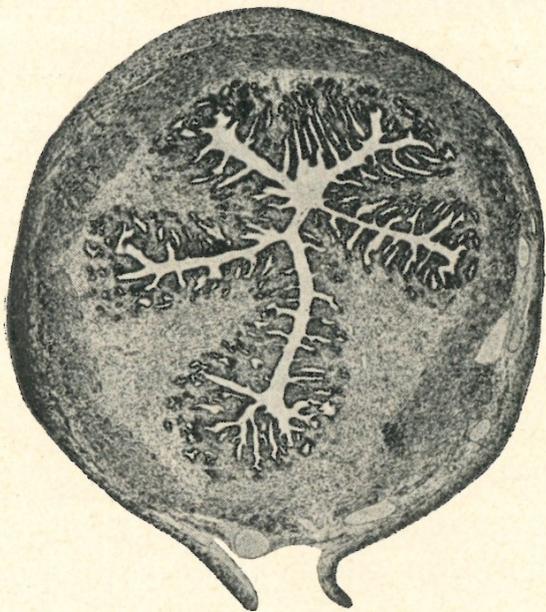


FIG. 4.

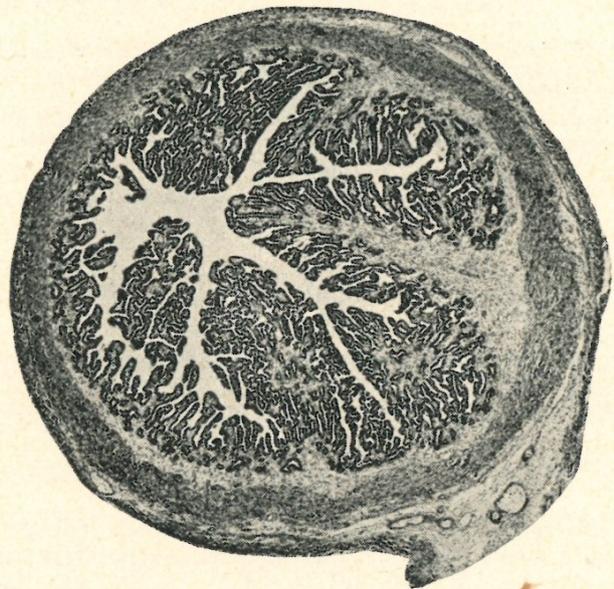


FIG. 5.

Sono stati attuati inoltre alcuni accorgimenti all'abituale tecnica che si esegue per il controllo dell'attività di tali preparati.

Le coniglie impuberi di gr. 600 circa dopo l'inoculazione dell'ormone follicolare venivano in 6^a giornata laparatomizzate in anestesia eterea o cloralosica. Lo scopo era di accertare il sesso che qualche volta non può essere individuato con sicurezza in animali così piccoli, ma soprattutto era quello di accertare lo stato anatomico degli organi sessuali interni e la reazione macroscopica all'azione della follicolina. Infatti poteva accadere di trovare animali con ipoplasia congenita degli organi sessuali che, mal rispondendo all'azione della follicolina, potevano, alla lettura dei preparati istologici, far interpretare non correttamente l'azione di un preparato luteinico.

Inoltre nella supposizione che l'ablazione di un corno uterino rendesse più evidente la reazione progestativa del corno superstite, come è stato descritto che accade sull'ovaio per l'ormone gonadotropo nella reazione di Aschheim-Friedmann, ad alcune coniglie veniva escisso con gli annessi un corno uterino, abitualmente il meno sviluppato. Si è potuto notare però che l'escissione non influisce in maniera bene evidente sulla reazione progestativa dell'adelfo.

I risultati delle esperienze sono riassunti nella seguente tabella:

PROVA DI CLAUBERG SU CONIGLIE IMPUBERI.

Follicolina benzoato inoculata in 6 giorni	mg. di progesterone stand. inoculato nei succ. 6 giorni	Stadio raggiunto	Animali usati	Follicolina benzoato inoculato in 6 giorni	mg. di progesterone stand. inoculato nei succ. 6 giorni	Stadio raggiunto	Animali usati
150 U. I.	0,30	1 ^o	3	150 U. I.	1,00	4 ^o	12
150 U. I.	0,50	3 ^o	3	150 U. I.	1,20	4 ^o	2
150 U. I.	0,60	3 ^o	2	150 U. I.	0,90	4 ^o	5
150 U. I.	0,80	3 ^o	2	150 U. I.	0,90	3 ^o	2
150 U. I.	0,80	4 ^o	2				

L'esame della tabella soprapriportata mostra che la dose di un mg. è capace di trasformare completamente la mucosa uterina in decidua pregravidica in tutti i 12 animali trattati (stadio 4 di Mc. Phail).

Con questa ricerca viene messo in evidenza che l'attuale Unità Internazionale, fissata nella 2^a Conferenza per la Standardizzazione degli ormoni, debba essere considerata una vera Unità fisiologica, nel senso che

coincide con la più piccola quantità capace di dare in tutti gli uteri di conigli pretrattati con follicolina, una reazione massimale (stadio 4 di Mc. Phail).

Si può notare inoltre dall'esame della tabella, che anche dosi di mg. 0,80-0,90 sono in grado di dare una reazione massimale; ed a questo riguardo si deve osservare che tale risultato pur non essendo costante in tutti gli animali trattati, è però presente in un buon numero di casi.

È opportuno quindi che nel determinare l'attività di una preparazione a titolo sconosciuto venga presa in considerazione questa eventualità, specie quando si opera su un ristretto numero di animali.

RIASSUNTO

L'autore ha voluto indagare a quale stadio della reazione progestativa descritta da Mc. Phail corrisponda l'U.I. di progesterone. Adoperando lo Standard internazionale e seguendo il metodo di Clauberg si è visto che un mg. dello Standard internazionale provoca costantemente modificazioni della mucosa uterina corrispondenti al 4° stadio, cioè al massimo della reazione.

Tale risultato può però essere ottenuto con dosi minori, ma non in tutti gli animali trattati.

Si è notato inoltre, che l'ablazione di un corno uterino non influenza in maniera evidente la reazione progestativa dell'adelfo.

SUMMARIUM

Auctor quaesivit cuinam momento reactionis progestativae a Mc. Phail descriptae U.I. progesteronis conveniat. Cum enim internationalem modulum (*Standard*) adhibuisset et Claubergianum modum secutus esset repperit uno mg. moduli internationalis mucosae uterinae inmutationes usquequaque, quae cum quarto, id est maximo, reactionis momento congruunt.

Eundem exitum potest quis consequi etiam minoribus dosibus, non vero in omnibus animalibus experimento subiectis.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Bull. trim. de l'Organis. d'Higiène, 40, n. 3 (1935).
 - (2) Idem, 6, n. 5 (1937).
 - (3) CORNER e ALLEN, Am. Journ. of Physiol., 88, 326 (1929).
 - (4) CLAUBERG, Zbl. Gynak, 54, 7, 1154 (1930); Die Weiblichen Sexualhormone, Springer, Berlin (1933).
 - (5) Mc PHAIL, J. of Physiol., 83, 145 (1934).
-
-