

26. Antonio PALA (*). — **Influenza dell'ormone somatotropo (STH) e dell'ormone androgeno sulle cartilagini articolari e di coniugazione nel ratto.**

Riassunto. — L'A., dopo alcune premesse teoriche sull'argomento, ha studiato dal punto di vista radiografico ed istologico l'effetto dell'ormone ipofisario della crescita (STH) e dell'ormone sessuale maschile (testosterone) separatamente od in combinazione somministrati a gruppi di ratti maschi integri in accrescimento, rivolgendo particolare attenzione alle cartilagini articolari e di coniugazione degli arti posteriori (ginocchio) e della colonna vertebrale (tratto lombo-sacrale).

Dal punto di vista istologico i risultati ottenuti confermano l'azione nettamente iperplasizzante dell'STH sul tessuto cartilagineo tanto della cartilagine di coniugazione che di quella articolare; l'ormone androgeno isolatamente ha indotto ipoplasia della cartilagine di coniugazione mentre nulla è stata la sua influenza su quella articolare.

La somministrazione combinata dei due ormoni ha coinciso, specie negli animali più a lungo trattati e particolarmente a livello delle articolazioni, con una maggiore accentuazione delle alterazioni istologiche rispetto a quelle descritte negli animali trattati con solo STH.

Viene messa in evidenza la somiglianza dei reperti sperimentali ottenuti con l'artrosi umana.

I rilievi radiologici, nella maggior parte dei casi e segnatamente nei riguardi della colonna vertebrale, hanno offerto dati di minore evidenza probabilmente in rapporto all'estrema piccolezza delle immagini radiografiche riguardanti le modificazioni osteo-cartilaginee da rilevare; tuttavia gli aspetti dell'iconografia radiografica hanno mostrato un certo grado di parallelismo con l'entità dei reperti istologici.

Viene discusso il rapporto tra i dati microscopici e radiologici ottenuti in alcuni gruppi di animali con quelli che sono presenti nel rachitismo.

Infine l'A. avanza alcune ipotesi sulla probabile interpretazione dei dati osservati, discutendo i fenomeni di « sinergismo » ed « antagonismo » ormonico.

Résumé. — L'auteur, après quelques considérations préliminaires théoriques, a étudié du point de vue radiologique et histologique l'effet de l'hormone hypophysaire de la croissance (STH) et de l'hormone sexuelle masculine (testostérone) administrées séparément ou en combinaison à des

(*) Ospite.

groupes de rats en croissance et normaux, en concentrant particulièrement son attention sur les cartilages articulaires et de jointure des membres postérieurs (genou) et de la colonne vertébrale (partie lombo-sacrée).

Du point de vue histologique, les résultats obtenus confirment l'action nettement hyperplasique du STH sur le tissu cartilagineux, qu'il s'agisse du cartilage de jointure ou du cartilage articulaire; l'hormone androgène isolément, a causé l'hypoplasie du cartilage de jointure, tandis qu'elle n'a eu aucune influence sur le cartilage articulaire.

L'administration combinée des deux hormones a coïncidé, surtout chez les animaux dont le traitement a duré le plus longtemps et surtout au niveau des articulations, avec une accentuation sérieuse des altérations histologiques par rapport à celles qui ont été décrites chez les animaux traités seulement avec le STH.

On met en évidence la ressemblance de ces résultats expérimentaux avec l'arthrose humaine.

Les leviers radiologiques, dans la plupart des cas et spécialement en ce qui concerne la colonne vertébrale, ont présenté des données moins évidentes, probablement à cause des dimensions minimales des images radiographiques concernant les modifications ostéo-cartilagineuses à observer: cependant l'iconographie radiographique a montré un certain degré de parallélisme avec l'importance des résultats histologiques.

On discute le rapport entre les données microscopiques et radiologiques obtenues chez certains groupes d'animaux avec celles qui se sont manifestées dans le rachitisme.

Enfin l'auteur, avance quelques hypothèses sur la probable interprétation des données observées, en discutant les phénomènes de « synergisme » et d'« antagonisme » hormonique.

Summary. — After a theoretical introduction the author studies the effects of the hypophysary growth hormone (STH) and the male sex hormone (testosterone) administered separately and together to groups of intact growing male rats. The study is made from both the radiographic and histological points of view. Particular attention is paid to the articular and conjugation cartilages of the hind limbs (the knees) and of the vertebral column (lumbo-sacral region).

From the histological point of view the results obtained confirm that the action of STH on the cartilaginous tissues of both conjugation and articular cartilages is clearly hyperplastic: the androgenous hormone in isolation induced hypoplasia in the conjugation cartilage but was without action on the articular cartilage.

In cases where both hormones were administered together, especially

in animals treated for a longer period and particularly at the level of the articulations, the histological changes were more accentuated than those described in animals treated with STH alone.

Evidence for a resemblance between the experimental results obtained and the symptoms of human arthrosis is adduced.

The radiological investigations in most cases and particularly in the case of the vertebral column produced less significant results. This is probably related to the extreme smallness of the radiographic image of the osteo-cartilaginous modifications under investigation. However, the appearance of the radiographs shows some degree of correspondence with the bulk of the histological findings.

The microscopic and radiological data obtained in several groups of animals are described in relation with the symptoms found in cases of rachitis.

The author offers in conclusion some hypotheses on the probable interpretation of the data observed, and discusses the phenomena of « synergism » and « antagonism » of hormones.

Zusammenfassung. — Nach einigen theoretischen Vorbemerkungen über das Thema berichtet der Verfasser über seine Untersuchungen der Wirkung des Hypophysen-Wachstulshormons (STH) und des männlichen Geschlechtshormons (Testosteron), die getrennt oder kombiniert Gruppen von gesunden männlichen Ratten im Wachstum verabreicht wurden. Bei den mittels Röntgenaufnahmen und histologischen Examen durchgeführten Untersuchungen wurde besondere Aufmerksamkeit den Gelenk- und Konjugationsknorpeln der hinteren Gliedmassen (Knie) und der Wirbelsäule (Lumbosacralteil) zugewendet.

Histologisch gesehen bestätigen die erhaltenen Ergebnisse die die rein hyperplasierende Wirkung des STH auf die Knorpelgewebe sowohl bei den Konjugations- wie auch bei den Gelenkknorpeln. Das Androgenhormon allein verursachte Hypoplasie des Konjugationsknorpels, während es ohne Einfluss auf den Gelenkknorpel blieb.

Bei kombinierten Gaben der beiden Hormone ergab sich besonders bei den länger behandelten Tieren und vorwiegend an den Gelenken eine Verstärkung der histologischen Veränderungen gegenüber den bei nur mit STH behandelten Tieren festgestellten.

Die Ähnlichkeit der Versuchsbefunde mit der Arthrosis bei Menschen wird aufgezeigt.

Die Röntgenbefunde ergaben in der Mehrzahl der Fälle und besonders hinsichtlich der Wirbelsäule weniger offensichtliche Resultate. Wahrscheinlich lag dies an der Kleinheit der Röntgenbilder, soweit es sich um

Veränderungen der Knochen und Knorpel handelte. Jedenfalls aber war bei den Röntgenaufnahmen eine gewisse Parallele mit den histologischen Befunden festzustellen.

Der Verfasser befasst sich sodann mit den Beziehungen zwischen den mit dem Mikroskop und den Röntgenaufnahmen bei einigen Tiergruppen gefundenen Werten und den bei Rachitismus vorhandenen Befunden.

Abschliessend werden einige Hypothesen über die wahrscheinliche Bedeutung und Auslegung der Beobachtungen aufgestellt, wobei die Erscheinungen von « Synergismus » und « Antagonismus » der Hormone diskutiert werden.

La maggiore attenzione e l'aumentato interesse portati, in questi ultimi tempi, sull'effetto esplicato dall'ormone somatotropo sia nei riguardi di vari organi e sistemi dell'economia, sia, particolarmente, sullo sviluppo del tessuto osseo e cartilagineo hanno dato l'avvio a numerose ricerche sperimentali e considerazioni cliniche su quest'ultimo particolare aspetto del problema (1, 2, 3, 4, 5, 6, 19).

E' ormai acquisito dalle ricerche di fisiologia e di biologia che l'STH agisce sul metabolismo esercitando un ruolo anabolico sulle sostanze proteiche di cui aumenta l'assimilazione favorendo la sintesi dei protidi dagli aminoacidi. L'ormone somatotropo stimola inoltre l'ossidazione dei grassi esercitando su di essi un effetto catabolico aumentando la mobilitazione e diminuendone l'assimilazione sì da poter provocare uno stato di chetosi. L'azione dell'STH sui glicidi è, almeno a partire da certe dosi, sicuramente diabetogena e sui ratti si ottiene un aumento del tasso glicemico, fenomeno reversibile entro dati limiti. L'effetto espletato sulle sostanze minerali è paragonabile a quello esercitato dal desossicorticosterone; è noto l'effetto dell'STH di aumentare il tasso del fosforo ematico e di diminuire l'eliminazione del sodio e del potassio; l'ormone somatotropo provoca altresì ritenzione del cloro sia plasmatico che globulare e condiziona l'elevazione del Δ crioscopico. E' del pari riconosciuta l'azione esercitata dall'STH sui tessuti di origine mesenchimale di cui stimola nettamente la proliferazione; nei processi di flogosi favorisce i fenomeni proliferativi-reattivi, analogamente a quanto fa il Doca con cui divide, secondo la dizione di Selye, la prerogativa di « ormono proflogistico »; esso induce così una esaltazione dei mezzi di difesa dell'organismo contro infezioni da germi piogeni o specifici come il bacillo di Koch (6, 7, 8, 9, 10, 32).

Colpisce, e ne facciamo qui un solo fugace accenno, l'azione in generale antagonista dell'ormone somatropo nei riguardi di quello adrenocorticotropo (ACTH) salvo, con certe riserve, per il metabolismo glicidico; infatti azione opposta essi esplicano sul catabolismo proteico il primo ormone inibendolo, il secondo esaltandolo e provocando aumentata eliminazione urinaria dell'azoto; il primo diminuendo ed il secondo aumentando l'eliminazione urinaria del potassio; migliorando il primo e peggiorando il secondo l'andamento dei processi infiammatori ed infettivi. Infine è da ricordare l'azione favorente dell'STH e del Doca sui processi di diffusione in seno al tessuto connettivo, con azione sulla sostanza fondamentale e sui fattori di diffusione quale la ialuronidasi, in contrasto all'azione, perfettamente opposta, esercitata dall'ACTH sugli stessi fenomeni.

Gli effetti esplicati dall'ipofisi anteriore sull'accrescimento del tessuto osteo-cartilagineo sono stati oggetto di osservazioni cliniche e di ricerche sperimentali; secondo un concetto generale di biologia, riferibile tanto all'animale quanto all'uomo, si può ritenere che l'STH agisca in maniera marcata sugli animali in accrescimento e relativamente meno su quelli adulti e sugli essere umani giovani quando i fenomeni di crescita si svolgano normalmente; bene agisce invece nell'uomo in cui si verificano fenomeni di crescita patologica purchè l'ormone sia somministrato a forti dosi [DE GENNES ⁽¹¹⁾].

In particolare l'ipofisi, attraverso la produzione dell'ormone somatotropo, regola e stimola in maniera diretta la moltiplicazione dei condroblasti negli strati più fertili della cartilagine, fertilità verosimilmente legata alla maggiore ricchezza di tali settori dell'osso in muco-polisaccaridi ^(12, 13, 19). La letteratura riporta, a riguardo dei rapporti tra stimolazione preipofisaria e sviluppo osteo-cartilagineo, numerosi contributi di cui facciamo soltanto in parte menzione.

SILBERBERG e SILBERBERG ⁽¹⁾, in una serie di lavori in cui si sono particolarmente occupati dei rapporti tra ipofisi anteriore, ormone somatotropo e tessuto osteo-cartilagineo, hanno trovato nelle cavie e nei topi sia in fase di accrescimento che a termine di tale periodo che la somministrazione di STH esplica un'azione in massima parte sovrapponibile a quella svolta dagli estratti anteipofisi; l'ormone stimola la proliferazione della cartilagine di coniugazione e la formazione di osso nei tessuti sottopofisari della corticale.

Le alterazioni della cartilagine consistono in aumento delle mitosi ed ipertrofia delle cellule cartilaginee e modificazioni della struttura della sostanza fondamentale; si può verificare anche una precoce saldatura delle zone di accrescimento per accelerazione dell'ossificazione endocrale; si possono verificare processi di riassorbimento dell'eccesso di tessuto cartilagineo formatosi. Tali fenomeni sono rilevabili, ma non sempre con la stessa intensità ed estensione, sia in animali ipofisectomizzati che integri.

Pure per quanto riguarda le modificazioni indotte dall'STH sulla cartilagine di coniugazione ricordiamo i contributi di BECKS, RAY, SIMPSON, EVANS ⁽¹⁴⁾ sulla sua azione attivante la crescita delle cellule della cartilagine seriale e dello sviluppo delle ossa.

Ancora SIMPSON ed EVANS ⁽³⁾ dimostrano che l'ormone della crescita produce un netto aumento dello sviluppo della cartilagine d'accrescimento delle ossa attraverso neoformazione osteo-cartilaginea.

CONTI ⁽¹⁵⁾, più recentemente, ha potuto rilevare, in una serie di ratti femmina intatti, un'azione tipicamente osteo-condrogenetica a livello del-

le cartilagini di coniugazione e del periostio da parte dell'STH, di fronte ad una ipotrofia della cartilagine stessa nei ratti trattati con solo estradiolo.

D'altro canto una serie di modificazioni osteo-cartilaginee in *sede articolare e juxta-articolare*, ravvicinabili a « croniche artropatie », sono state pure ottenute negli animali, sia sani che surrenectomizzati, dopo trattamento con ormoni ipofisari purificati.

SILBERBERG M. ⁽¹⁶⁾ ha riprodotto nelle cavie una lesione dall'A. denominata « artropatia acromegalica » dopo breve trattamento con estratti di ormone anteipofisario di gatto.

SILBERBERG e SILBERBERG ⁽¹⁾ poterono rilevare che l'ormone somatotropo determina alterazioni perplastiche, ipertrofiche e regressive a carico della cartilagine di incrostazione pur non arrivando a produrre gravi lesioni articolari.

SELYE ⁽¹⁷⁾ ha notato la comparsa di alterazioni articolari definite di « rheumatoid type » in ratti trattati con ormone anteriore ipofisario liofilizzato.

REINHARDT e LI ⁽²⁾ hanno ottenuto particolari alterazioni osteo-articolari, a livello delle caviglie e delle ginocchia, in ratti trattati con ormone ipofisario della crescita e definite con il termine di « chronic arthritis »; tali alterazioni consistevano in irregolarità ed erosioni dei margini dei condili, in aree di osteo-porosi localizzata dei condili stessi con calcificazioni dei margini articolari; esistevano anche lesioni extra articolari con depositi di calcio nelle fasce e nei tendini periarticolari, come nel tendine di Achille.

Ancora la SIMPSON ed i suoi Coll. ⁽³⁾, tornando sull'argomento dell'artropatia indotta nei ratti mediante ormone ipofisario somatotropo, hanno riferito come le lesioni siano possibili particolarmente a livello delle ginocchia, anche e colonna vertebrale e per lo più in maniera simmetrica.

Del tutto recentemente infine LUCHERINI e Coll. ⁽⁴⁾ hanno portato un notevole contributo all'argomento. Detti AA., studiando il possibile ruolo dell'ipofisi anteriore e dell'ormone della crescita nella malattia umana « artrosi », malattia considerata oggi come un'alterazione inizialmente della cartilagine a carattere iperplastico-ipertrofico e portando l'attenzione sull'influenza dell'ormone somatotropo nei riguardi sia della cartilagine di coniugazione che di quella di incrostazione nella cavia, hanno potuto rilevare:

a) che a carico del tessuto cartilagineo le lesioni caratteristiche concernevano la sostanza fondamentale (spiccata iperplasia), le cellule

cartilaginee (distribuzione anomala, fenomeni regressivi citoplasmatici e nucleari) e l'osteogenesi midollare.

b) che l'entità delle alterazioni istologiche era proporzionale alla durata del trattamento ormonico che, nell'esperienza degli AA., va dalle due alle otto settimane con somministrazione endoperitoneale di 60 U. di SHT alla settimana.

c) che è accettabile la verosimiglianza e l'importanza di una iperattività somatotropa nel determinismo e nella patogenesi della malattia umana *artrosi*.

Tali concetti risultano analoghi a quelli espressi in Francia dal DE SÈZE ⁽¹⁸⁾ sia nei riguardi dell'artrosi che dell'artropatia acromegalia quest'ultima riconducibile, per citare l'espressione dell'A. francese, ad « ... una perfusione naturale di ormone somatotropo a dosi massive ».

L'iperattività funzionale dell'ipofisi anteriore preparerebbe, in ultima analisi, il terreno all'insorgenza della malattia umana con il concorso di quelle concause che, da tempo, sono note in patologia e sulle quali è stata richiamata anche recentemente l'attenzione degli studiosi ⁽¹⁹⁾, quali le dismorfie, gli stati dismetabolici, l'ipertensione arteriosa ed i disturbi circolatori, i traumi, il sovraccarico e gli squilibri statici a carico del sistema articolare.

* * *

Passando ad esaminare l'effetto degli ormoni secreti dalle gonadi sullo sviluppo osteo-cartilagineo ricordiamo come non sia riconosciuta da taluni AA. un'azione diretta da parte delle glandoli sessuali sui processi proliferativi della cartilagine di accrescimento; d'altra parte processi proliferativi, riscontrabili occasionalmente dopo somministrazione di minime dosi di ormoni sessuali, sarebbero dovuti ad una contemporanea iperfunzione reattiva delle cellule eosinofile ipofisarie che a loro volta, attraverso la produzione di STH, incrementano notevolmente le mitosi degli strati germinali della cartilagine.

In via generale è però da ritenersi che, se la quantità di ormoni sessuali (sia androgeni che estrogeni) somministrata è notevole, si ottiene attraverso una inibizione della secrezione della somatotropina un ostacolo nelle mitosi delle cellule degli strati fertili della cartilagine; quindi, a partire almeno da certe dosi, sussiste un antagonismo fisiologico tra l'effetto dell'ormone somatotropo e quello delle glandoli genitali ed all'azione stimolante dell'STH sulla proliferazione osteo-cartilaginea endocondrale si oppone quella inibente degli ormoni sessuali che

favoriscono, alla loro volta, la osteosclerosi iuxta-diafisaria delle cartilagini di coniugazione ritardando od inibendo, in definitiva, la crescita in lunghezza delle ossa (², ⁵, ⁷, ¹¹, ²⁰, ²¹, ²², ^{22bis}, ^{26bis}).

Riferendoci particolarmente agli ormoni androgeni, attinenti più da vicino lo scopo del nostro lavoro, si può dire che solo pochi A. furono capaci di dimostrare un limitato aumento corporeo e scheletrico in ratti iniettati con androgeni, mentre la maggior parte dei ricercatori ebbero risultati negativi.

Ad es. RUBISTEIN e SOLOMON (²³) videro che piccole dosi, dell'ordine di 50γ di testosterone, stimolavano la crescita della cartilagine di coniugazione in ratti sia intatti che castrati, mentre le forti dosi (dell'ordine di 1 mg) l'inibivano.

Analogamente, nelle esperienze di RUBISTEIN, ABARBANEL e KURLAND (²⁴) come in quelli di SHAY e Coll. (²⁵), il testosterone alle dosi di 1 mg., somministrato 3 volte alla settimana fin dalla nascita, non aveva alcun effetto sulla crescita degli animali o addirittura la deprimevano (²⁶tris).

Così pure TURNER e Coll. (²⁶) non notarono nessuna influenza, esercitata sulla crescita corporea ed ossea, di 2 mg di testosterone inoculati in ratti normali o castrati anche somministrando l'ormone fin dalla nascita.

La SIMPSON e i suoi Coll., nel lavoro già citato del 1944 (³), trovarono parimenti che il testosterone, iniettato da 1/2 a 4 mg per un periodo da 4 a 20 giorni in ratti maschi e femmine ipofisectomizzati, non produceva un significativo aumento del corpo e delle dimensioni dello scheletro, ma permaneva, e soltanto in alcuni animali, una « modesta osteogenesi al contrario di ciò che accadeva nei controlli in cui il processo era invece del tutto quiescente ».

Mancano, a nostra conoscenza, rapporti e ricerche dettagliate sulla azione dell'ormone maschile nei riguardi delle cartilagini articolari.

* * *

Per quanto concerne l'influenza degli ormoni sessuali, iniettati simultaneamente all'STH, sull'azione di stimolo esercitata dall'ormone somatotropo nei riguardi della cartilagine di coniugazione, le ricerche non hanno approdato a risultati univoci avendo gli sperimentatori ottenuto dati contraddittori.

Come abbiamo già ricordato è nozione di fisiologia e patologia umana che gli ormoni delle gonadi, ad un dato momento dell'evoluzione, limitino od inibiscano la crescita delle ossa in antagonismo con l'STH e che, quindi, l'aumento in lunghezza dell'osso diminuisca e si arresti sotto l'azione fisiologica o patologica degli increti sessuali; rappresen-

tando questa successione di fenomeni uno degli esempi del mirabile equilibrio e delle fini interrelazioni esistenti nel complesso giuoco ormonico durante l'accrescimento corporeo. Ricordiamo, d'altra parte, che differenti risultati hanno ottenuto la SIMPSON e Coll. (3), dalle cui esperienze risulta che l'ormone della crescita somministrato contemporaneamente all'ormone sessuale maschile produce, ma solo in alcuni animali, un aumento del peso corporeo e dell'ampiezza delle cartilagini di coniugazione maggiore che negli animali trattati con solo STH; è opinione degli AA., in base a tali dati, che si possa verificare un sinergismo di azione tra testosterone ed ormone somatotropo.

Analogamente CONTI (15) ha potuto constatare che l'azione degli estrogeni sulla cartilagine epifisaria, quando vengano somministrati in unione con l'STH, provoca una più rapida e maggiore formazione di tessuto nella zona cartilaginea di accrescimento dell'epifisi rispetto agli animali trattati con solo STH o con solo estrogeno.

Da queste brevi considerazioni e dalle citazioni bibliografiche fatte viene richiamata l'attenzione sulla interdipendenza e sugli antagonismi tra ormone della crescita ed ormoni sessuali nei riguardi della loro azione sullo sviluppo della *cartilagine di accrescimento*.

Poco o nulla invece sappiamo su quell'aspetto del problema che interessa più direttamente gli scopi della presente indagine; infatti non sono a nostra conoscenza, finora, dati della letteratura e prove sperimentali sugli eventuali effetti esercitati dagli ormoni delle gonadi nei riguardi di quelle modificazioni osteo-cartilaginee *in sede articolare* e di quella « artropatia » che, come abbiamo già più volte citato, l'STH riesce a produrre nell'animale parallelamente alle alterazioni indotte nella zona epifisaria.

Da un punto di vista generale e come ci è mostrato dalla patologia spontanea e dalla clinica umana, è nota una più facile insorgenza di lesioni articolari di tipo artrosico in quell'epoca della vita in cui gli ormoni genitali vanno incontro ad una spontanea flessione, come suol accadere nel periodo involutivo e del climaterio in entrambi i sessi; ed, a spiegazione di tali fenomeni, potremmo pensare, in analogia a numerosi altri esempi nel campo delle interrelazioni ormonali e degli stati di equilibrio e di squilibrio endocrino, che esista in tale periodo una maggiore liberazione di ormone somatotropo per relativa carenza di ormoni a azione moderatrice di origine genitale; in appoggio a tale ipotesi starebbe anche il verificarsi, verso la 5^a e 6^a decade della vita (epoca prediletta per l'insorgenza della malattia artrosica e particolarmente nelle donne) di un evidente aumento del tasso del fosforo e dell'attività fosfatasica del siero, dati ritrovati in più del 50% dei casi di artrosi esaminati da LUCHERINI

e Coll. e ritenuti da tali AA. elementi probativi di una iperattività somatotropa e di possibili rapporti tra iperfunzione ipofisaria anteriore ed insorgenza di artrosi.

Numerose ricerche hanno documentato i diretti rapporti e l'azione di controllo dell'STH sul ricambio del fosforo inorganico; l'iniezione di estratto ipofisario aumenta la fosforemia (²⁷); l'ipofisectomia comporta all'opposto ipofosforemia e la somministrazione di STH impedisce nel ratto ipofisectomizzato l'abbassamento del tasso fosforemico (²⁸).

Dal punto di vista della clinica e della patologia umana si conosce che il tasso del fosforo inorganico aumenta nel sangue dai primi mesi di vita e nel periodo prepubere (tasso fosforemico alto in parallelismo con l'attività ipofisaria stimolante la crescita) al periodo della pubertà in cui la fosforemia si abbassa con l'entrata in funzione delle gonadi (²⁹); ed ancora la fosforemia è quasi costantemente elevata nei casi di acromegalia attiva non trattata e vi è un rapporto tra il decorso della malattia ed il tasso ematico del fosforo (^{30, 31}). Analogamente l'STH produce un aumento anche delle fosfatasi alcaline (³²).

Prendendo adesso in considerazione il problema dal punto di vista strettamente sperimentale, e tenuto conto di quanto finora esposto, a noi sembra che non debba verificarsi contrasto concettuale nell'ammettere che l'azione esplicata dall'STH nell'animale all'altezza delle strutture articolari e pararticolari possa eventualmente essere inibita, limitata o comunque modificata da increti — come quelli delle gonadi — ad azione moderatrice, dal punto di vista fisiologico endocrinologico (^{22bis}) e terapeutico (^{26bis}), nei confronti dell'attività ormonica preipofisaria.

Così, ad es., LUCHERINI e Coll. (⁴) hanno dimostrato come il cortisone, ormone per alcune proprietà opponente dell'STH, possa inibire l'insorgenza di lesioni osteo-articolari indotte dalla somministrazione di ormone della crescita nella cavia.

Ed ancora aggiungiamo, a questa rapida rassegna di opinioni e di dati, l'affermazione espressa dal DE GENNES (¹¹) nel suo recente trattato di malattie endocrine per cui « ...se pure è difficile provare effetti antagonisti tra azione dell'ormone somatotropo ed ormoni sessuali nella clinica e nella terapia umana, tuttavia ciò appare più agevole dal punto di vista sperimentale ».

Non ci è sembrato dunque privo di interesse, in mancanza di precisi e definitivi dati al riguardo, di osservare se l'ormone androgeno potesse inibire o limitare l'insorgenza non solo delle modificazioni che l'STH suole indurre all'altezza delle cartilagini di coniugazione quanto di quelle che sogliono essere provocate, dal medesimo ormone, nelle zone articolari e pararticolari; ci ripromettiamo di studiare, in un'ulteriore indagine, il comportamento delle medesime modificazioni istologiche (da STH nella cartilagine articolare) di fronte agli ormoni estrogeni.

PIANO DELLE RICERCHE ED ESPOSIZIONI DEI RISULTATI.

L'esperienza è stata condotta per 75 giorni su un lotto di 16 ratti albinici maschi intatti, del peso iniziale di gr. 90-92. Sono stati prescelti i ratti, a preferenza di altri animali, per la loro caratteristica di animali onnivori; inoltre abbiamo voluto sperimentare su animali non ipofisectomizzati data la maggiore fragilità e mortalità cui vanno incontro gli ipofisectomizzati specie in una prolungata esperienza. Abbiamo scelto ratti in accrescimento sembrandoci verosimile l'ipotesi che maggiore potesse essere la risposta e la capacità di reazione di un tessuto in accrescimento verso stimoli che agissero prolungatamente su di esso; nel nostro caso particolare gli effetti sul tessuto cartilagineo di ratti in accrescimento (e quindi in maggiore attività anatomica e funzionale) ad opera dell'STH potevano aspettarsi esseri più netti ed appariscenti di quanto ottenibile operando in animali adulti, con affievolita anche se non spenta crescita del tessuto in esame. Gli animali, appartenenti alla stessa covata e tenuti nelle stesse condizioni di normale alimentazione e di illuminazione, furono divisi in 4 gruppi di 4 animali ciascuno, come segue:

1° Gruppo: animali controllo

2° Gruppo: animali che hanno ricevuto, per via sottocutanea (cute dell'adome e dei fianchi) l'ormone somatotropo alla dose giornaliera di mg 1 per i primi 20 giorni; di mg 2 per i successivi 20 giorni; di mg 4 dal 41° al 50° giorno ed infine di mg 6 dal 61° al 75° giorno; l'ormone adoperato era allo stato liofilizzato e contenente non meno di 10 U. EVANS per mg di sostanza secca. La soluzione dell'ormone nell'adatto solvente è stata fatta in modo di non avere, per ogni singola introduzione, un volume di liquido superiore ad 1 cm³ e ciò per non sovraccaricare eccessivamente gli animali durante l'esperienza.

3° Gruppo: animali che hanno ricevuto per tutta la durata della prova la dose giornaliera di mg 2 di ormone androgeno (testosterone propionato) per via sottocutanea nella regione delle coscie ed in un volume di solvente oleoso che non ha superato, per ciascuna iniezione e per analoghe ragioni di cui al capoverso 2°), i 4 centesimi di cm³.

4° Gruppo: animali che hanno ricevuto contemporaneamente, ma separatamente iniettati, l'STH ed il testosterone nelle dosi e con la modalità riferite ai capoversi 2°) e 3°).

Gli ormoni impiegati sono stati l'ormone somatotropo liofilizzato CHOAY e l'ormone androgeno in soluzione oleosa Ciba.

Di ciascun animale sono stati controllati, di settimana in settimana, le modificazioni del peso e della lunghezza misurata dal naso alla punta della coda. Alla fine dell'esperienza gli animali sono stati sottoposti ad indagine radiografica con speciale riguardo agli arti posteriori ed al tratto lombo-sacrale della colonna vertebrale; dopo sacrificati sono stati raccolti l'ipofisi i surreni ed i testicoli di cui sono stati osservati l'aspetto macroscopico e misurati i rispettivi pesi. Si sono infine allestiti preparati istologici, con colorazione ematossilina-eosina, con tagli seriali riguardanti l'articolazione del ginocchio e i tratti della colonna vertebrale summenzionata.

Due animali del 4° gruppo (trattamento combinato STH + testosterone) sono premorti al 30 e 35° giorno di esperienza ed anche per essi sono stati eseguite le ricerche istituite per gli altri animali sacrificati al 75° giorno.

I risultati sull'accrescimento ponderale sono riportati nei grafici n° 1 e 2 e sulla tabella I; i dati sulla lunghezza del corpo e sul peso degli organi sono riassunti nelle tabelle I e II; i dati raccolti nell'indagine radiografica ed in quella istologica sono esposti nei due seguenti paragrafi:

1) Reperti radiografici riguardanti l'articolazione del ginocchio ed il tratto lombo-sacrale della colonna vertebrale.

L'indagine radiologica ha messo in evidenza i seguenti reperti:

a) articolazione del ginocchio. — Le modificazioni più appariscenti si sono avute nei ratti trattati con STH (fig. 3-5) e con STH + testosterone per 75 giorni (fig. 9) ma non con uguale intensità in tutti gli animali appartenenti allo stesso gruppo. Le modificazioni dell'immagine radiografica, rispetto ai controlli (fig. 1), sono consistite in un'alterazione morfologica dei capi ossei articolari rappresentata dalla perdita del loro normale aspetto rotondeggiante e da irregolarità dei margini. L'epifisi distale del femore e prossimale della tibia, ma particolarmente la prima, appaiono come « rigonfie », di aspetto sfumato e con assottigliamento della corticale; si nota inoltre un aumento di ampiezza della banda trasparente corrispondente alle zone metafisarie. Meno marcate appaiono le alterazioni negli animali trattati con STH + testosterone per solo 35 giorni (fig. 8).

Non vi sono state invece modificazioni di rilievo nell'immagine radiografica della stessa articolazione nei ratti trattati con solo testosterone (fig. 6).

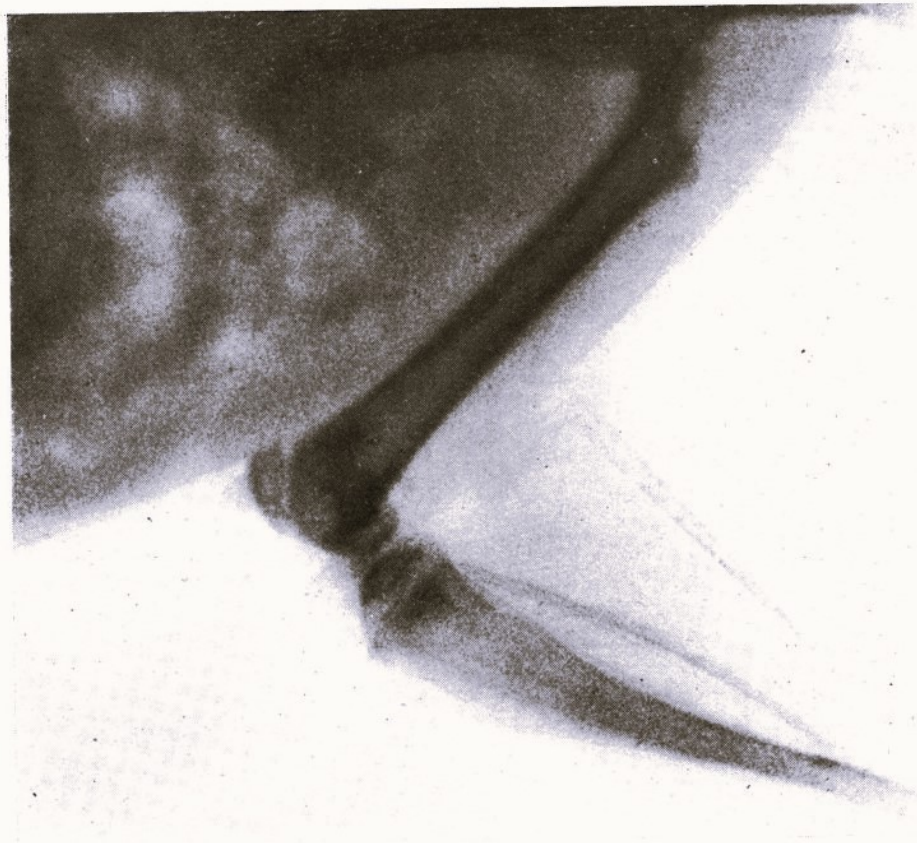


Fig. 1 - Ratto controllo. Aspetto dell'articolazione del ginocchio.

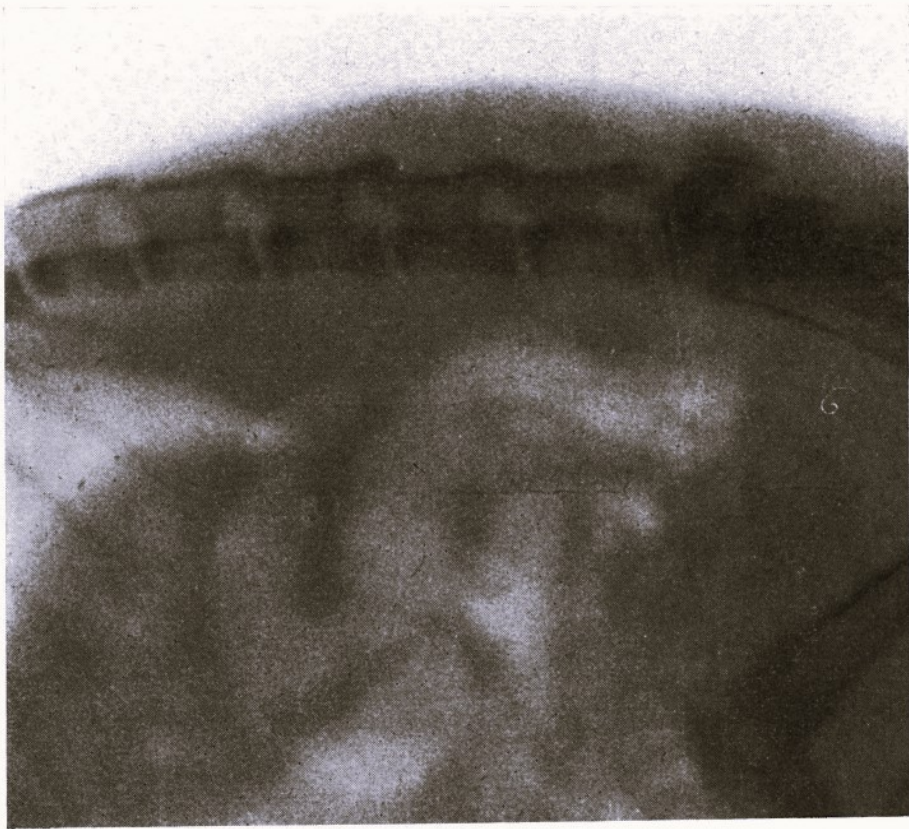


Fig. 2. - Ratto controllo. Aspetto della colonna vertebrale tratto lombo-sacrale.

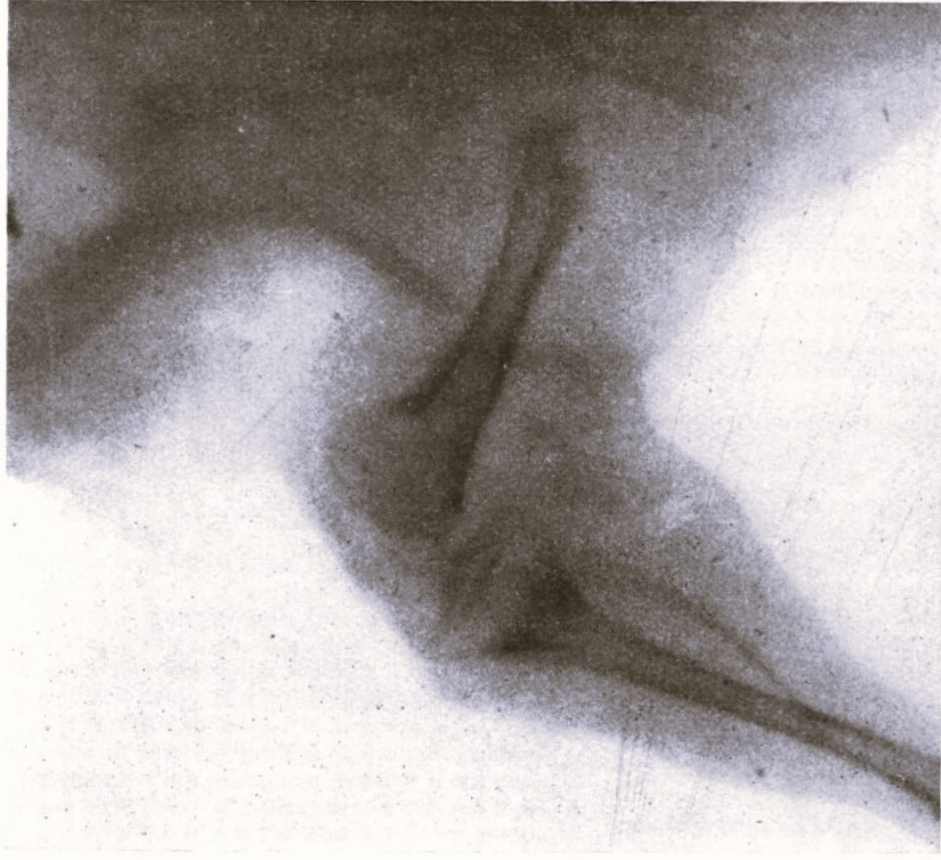


Fig. 3. - Ratto trattato per 75 giorni con STH. Si nota la modificazione di forma e l'aumento di volume dei capi articolari che appaiono come « soffiati » e di aspetto sfumato. Aumento di ampiezza della zona corrispondente alla cartilagine di coniugazione.

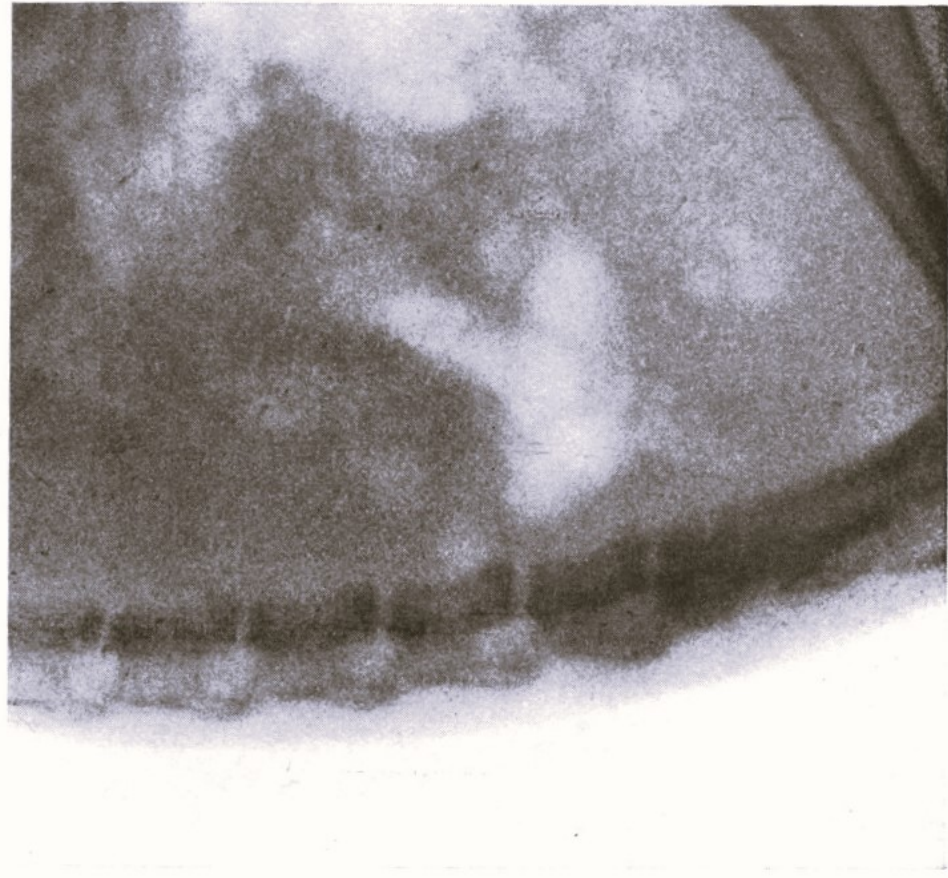


Fig. 4. - Colonna vertebrale dello stesso ratto di cui alla figura 3.

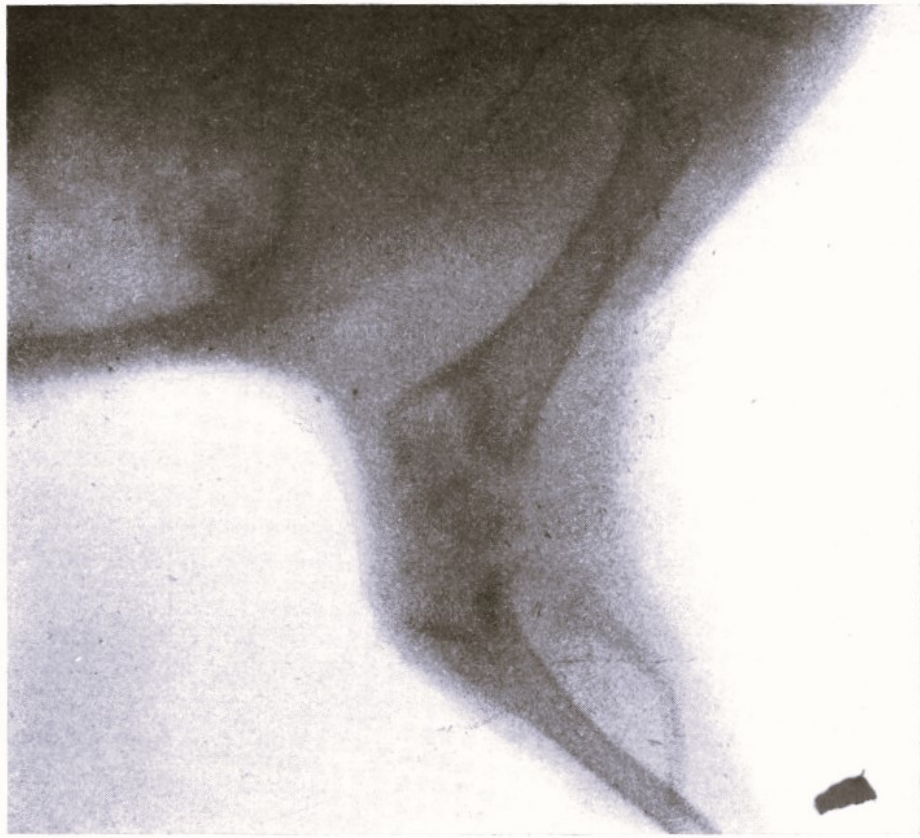


Fig. 5. - Ratto trattato per 75 giorni con STH. L'aspetto ricorda quello della fig. 3 con maggiore estensione ed intensità delle alterazioni radiologiche.



Fig. 6. - Ratto trattato per 75 giorni con testosterone. Aspetto pressochè simile ai controlli.



Fig. 7. - Colonna vertebrale dello stesso ratto della fig. 6.



Fig. 8. - Ratto trattato per 35 giorni con STH + testosterone. Si notano modificazioni non marcate dell'immagine radiografica evidenti particolarmente nella zona della cartilagine di accrescimento.

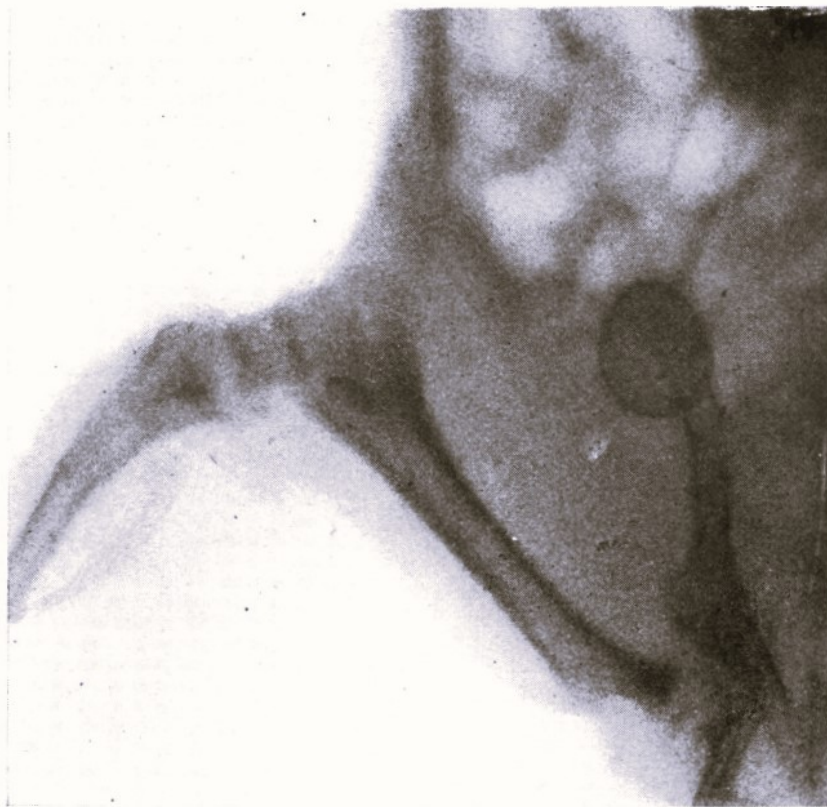


Fig. 9. - Ratto trattato per 75 giorni con STH + testosterone. Marcate modificazioni di forma e volume dei capi articolari. Più ampia che di norma e sfumata la zona della cartilagine di accrescimento.

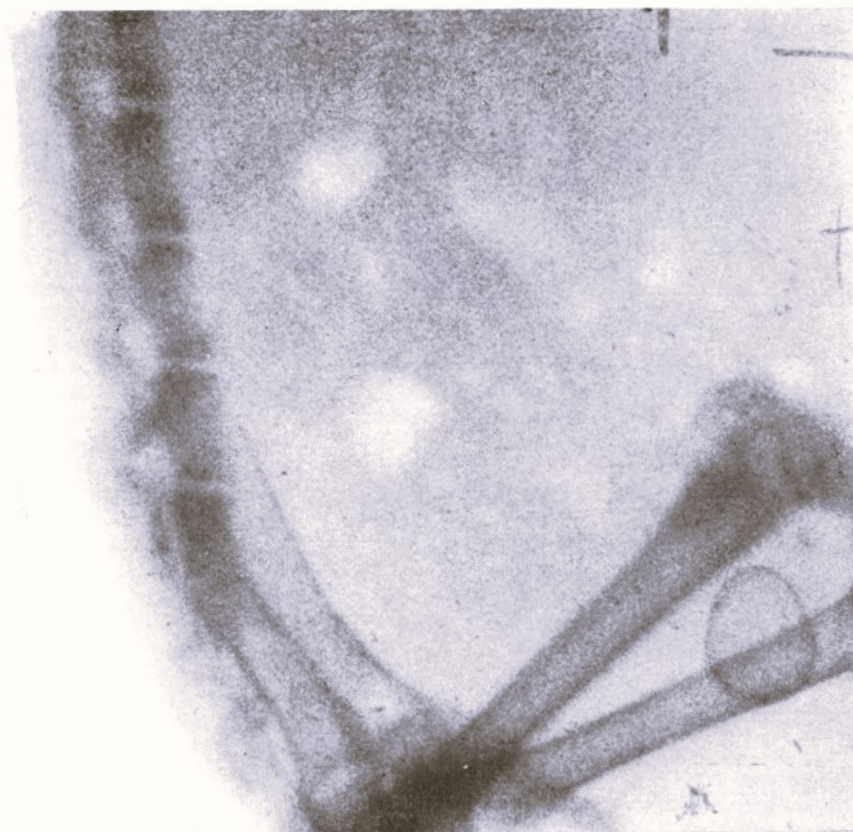


Fig. 10. - Colonna vertebrale del ratto della fig. 9. Si nota solamente un certo grado di radiotrasparenza dei corpi vertebrali che rendono l'immagine più sfumata.

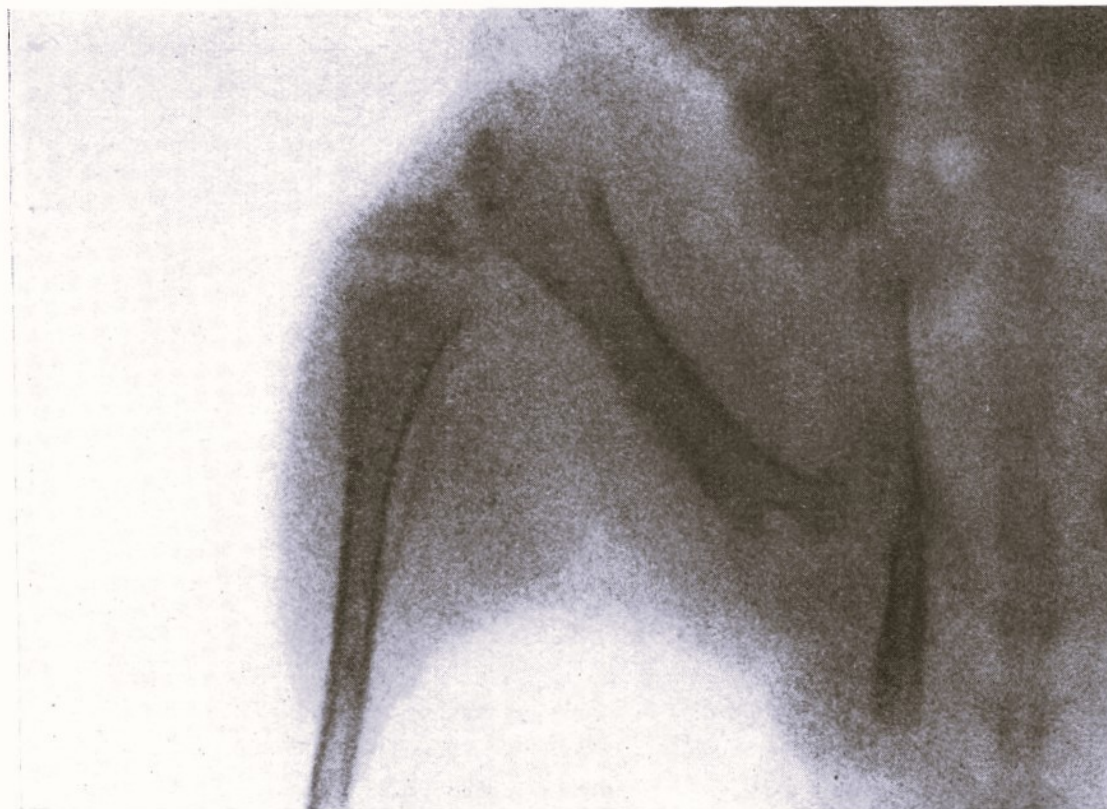


Fig. 11. - Ratto rachitico trattato con dieta alternata Mc. Collum e Steenbock-Black. Si nota l'aumento di ampiezza e la scarsa nettezza di limiti della zona della cartilagine di coniugazione. Relativa conservazione della forma dei capi articolari.

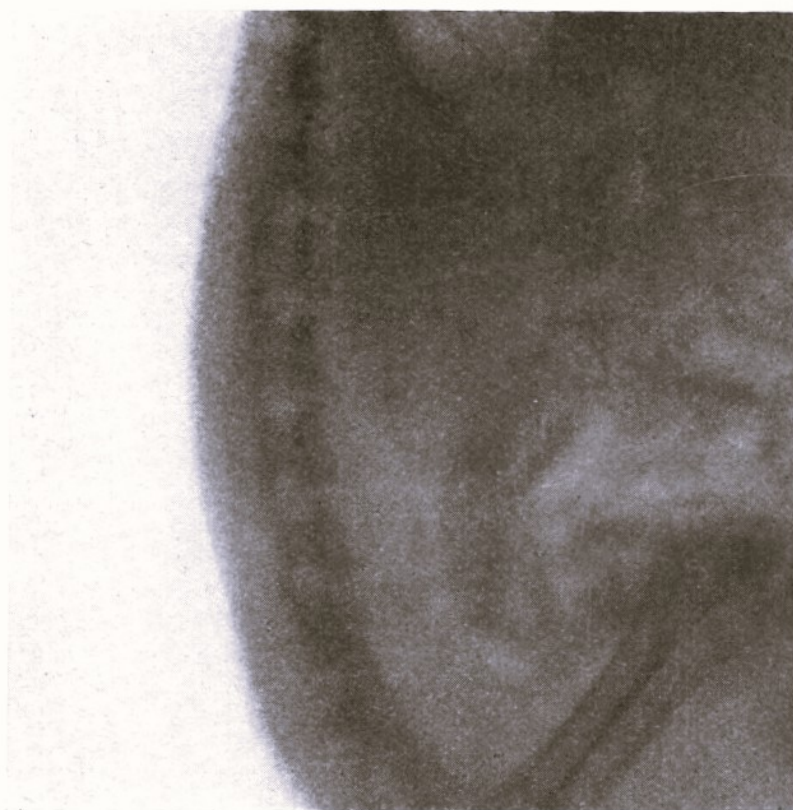


Fig. 12. - Colonna vertebrale del ratto della fig. 11. Si nota una marcata radiotrasparenza dei corpi vertebrali i cui contorni risultano assai sfumati.

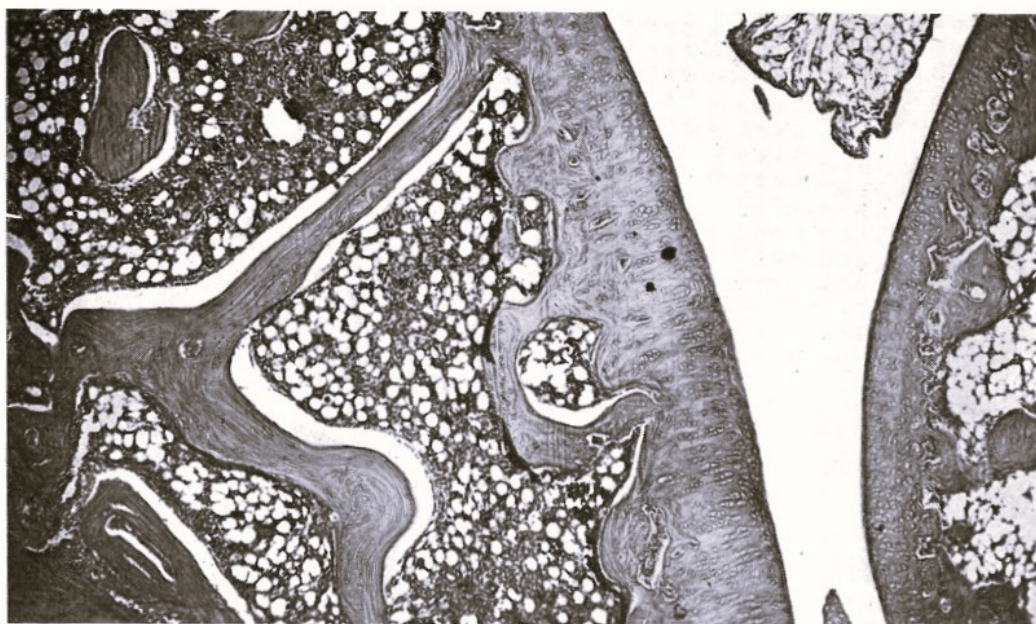


Fig. 13. - Ratto controllo (ingr. $\times 40$ diametri). Veduta panoramica dell'articolazione del ginocchio che mostra l'epifisi distale del femore, prossimale della tibia e la rima articolare. Si nota la regolarità e la continuità della superficie articolare e l'aspetto normale delle cellule cartilaginee quasi parallele alla superficie nel sottile strato subito al disotto dell'orlo limitante e perpendicolari, in serie allungate, negli altri strati della cartilagine; più profondamente è presente il tessuto osseo spongioso dell'epifisi.

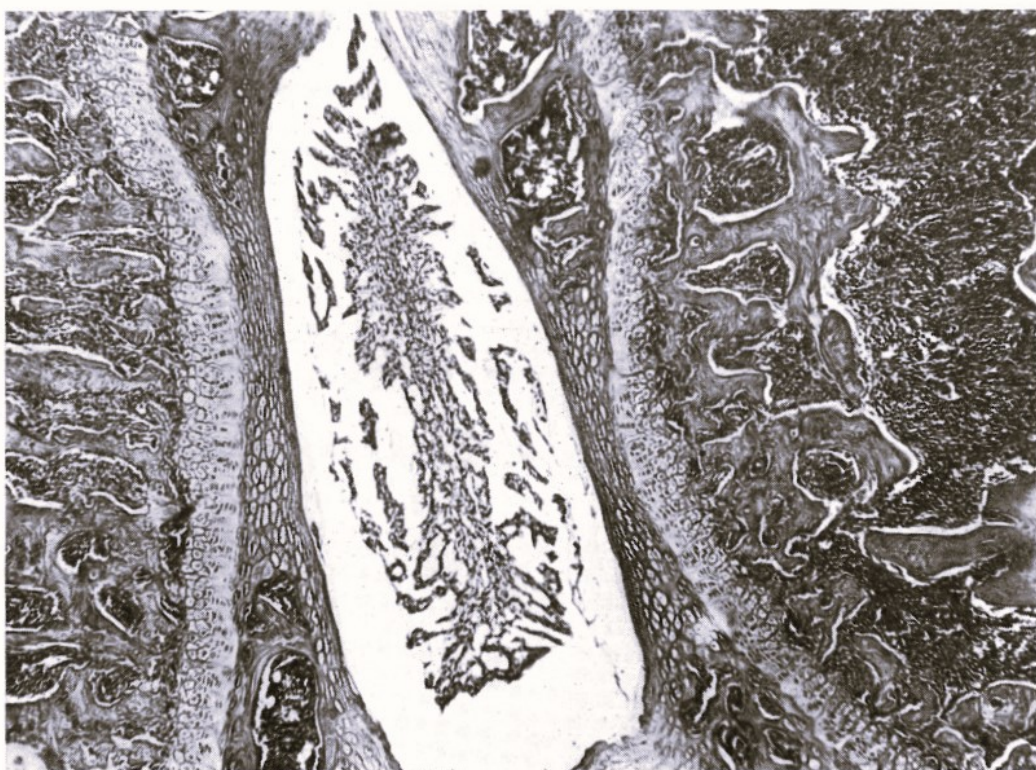


Fig. 14 - Ratto controllo (ingr. $\times 40$). Veduta panoramica di due corpi vertebrali (tratto lombo-sacrale della colonna) e del disco intervertebrale corrispondente. Si noti lo svolgimento regolare delle due cartilagini di coniugazione ed articolare. Aspetto e disposizione dei vasi sanguigni normale.

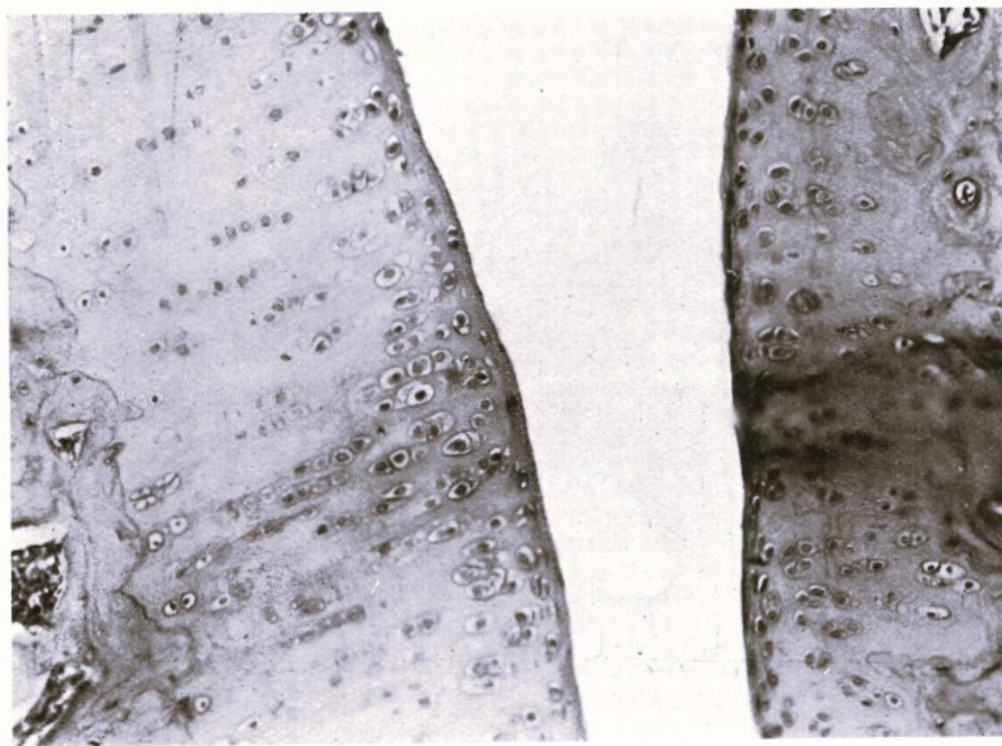


Fig. 15. - Dettaglio della fig. 13 (ingr. $\times 100$). Risalta l'aspetto normale, in massima parte longitudinale, delle cellule più profonde verso la spongiosa dell'epifisi, mentre le cellule più superficiali si dispongono con il maggior asse parallelamente alla superficie articolare. L'orlo articolare limitante si presenta di aspetto continuo e netto.

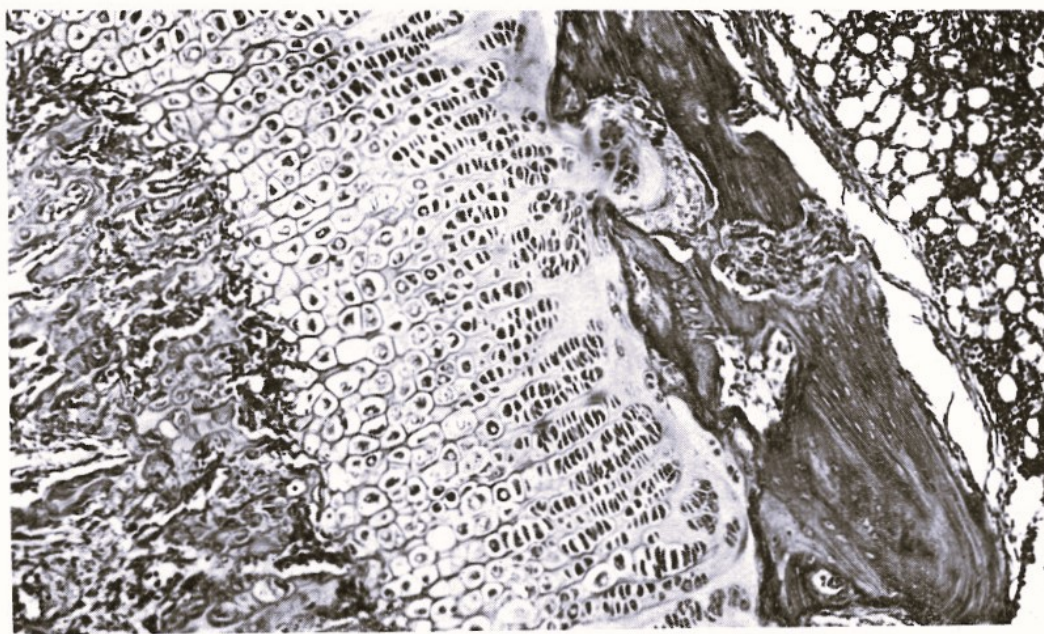


Fig. 16. - Dettaglio fig. 14 (ingr. $\times 100$ diametri). Aspetto e particolari delle capsule, dei nuclei e delle cellule cartilaginee dello strato più superficiale «seriato» (a «pila di cappelli») e di quello più profondo così detto «ipertrofico» della cartilagine di coniugazione; rapporto di sviluppo di questi due strati fra di loro, nei ratti in esame, circa il 50%; sostanza fondamentale presente e circondante a manico le cellule dello strato «seriato»; assai scarsa intorno alle cellule dello strato ipertrofico. Aspetto e sviluppo dei capillari sanguigni metafisari: normale.

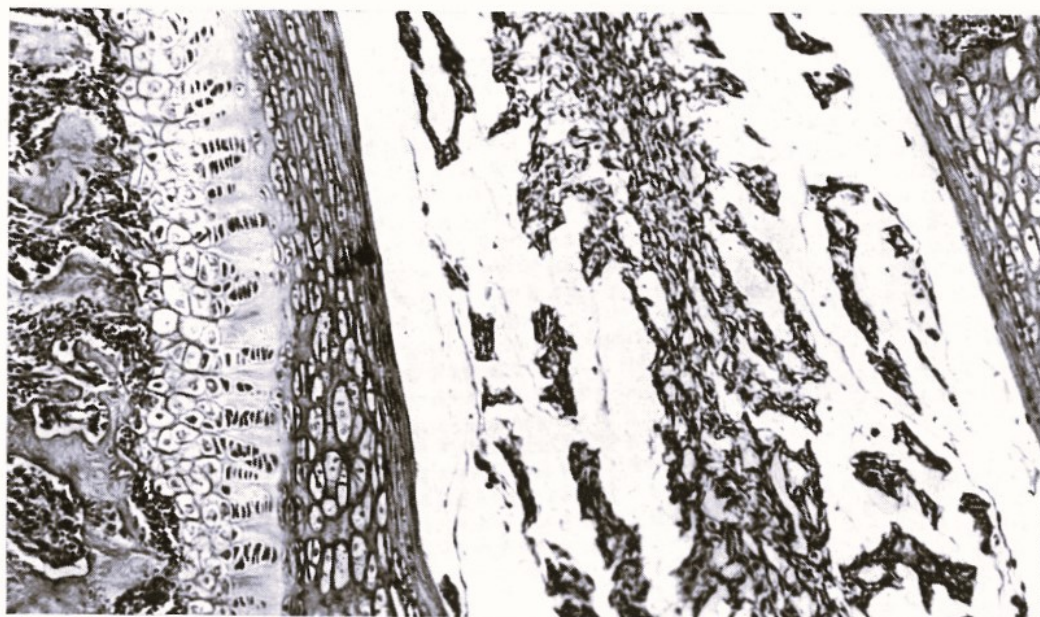


Fig. 17. - Dettaglio della fig. 14 (ingr. $\times 100$). Si nota anche nelle vertebre, come nei capi articolari delle ossa lunghe, la disposizione longitudinale delle cellule della cartilagine di coniugazione ed il rapporto di circa il 50% tra cellule degli strati striato ed ipertrofico. Le cellule della cartilagine articolare, a immediato contatto con la sottostante cartilagine epifisaria senza interposizione di tessuto osse spongioso (come si trova invece nelle epifisi articolari delle ossa lunghe), sono contenute in capsule allungate e come schiacciate ed appaiono parallele alla superficie che guarda il disco intervertebrale; sono stipate fra di loro con scarsa sostanza fondamentale interposta.



Fig. 18. - Ratto trattato con STH per 75 giorni (ingr. $\times 40$). Dettaglio delle cartilagini articolari, in alcuni punti più sottili in altri più larghe. Gli elementi cellulari appaiono senza disposizione longitudinale; notevole ipertrofia della capsula cartilaginea negli strati più profondi.

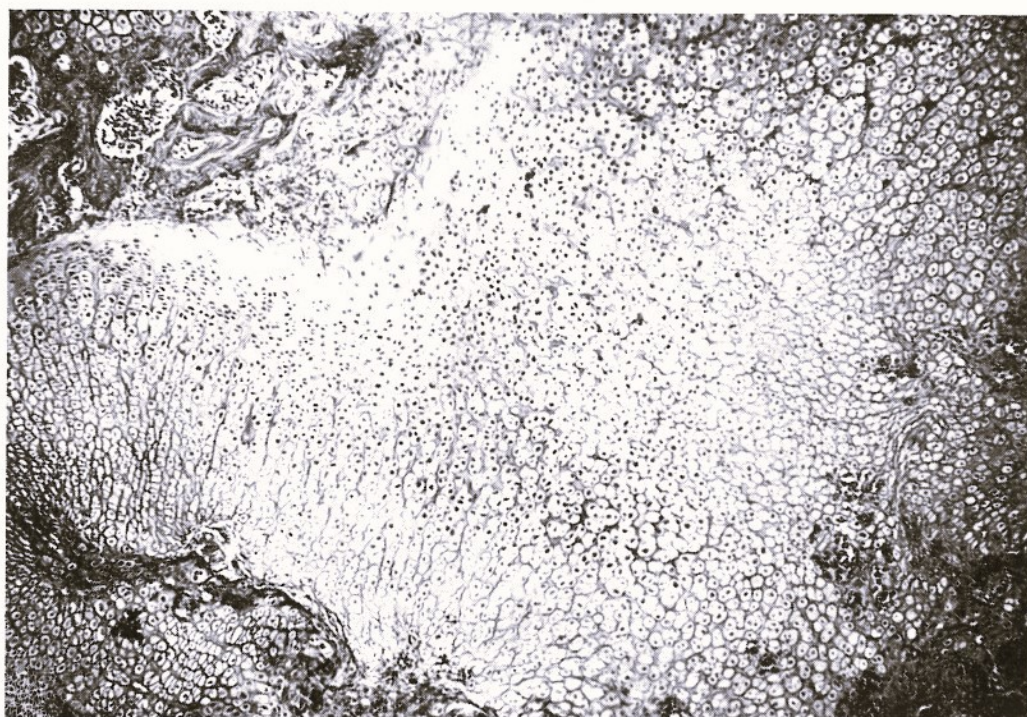


Fig. 19. - Dettaglio della figura precedente. Particolare della cartilagine di coniugazione che mostra in un punto, a destra, la abnorme proliferazione e la disorganizzazione delle cellule con scomparsa del caratteristico aspetto seriato e riduzione relativa della sostanza fondamentale intercellulare.

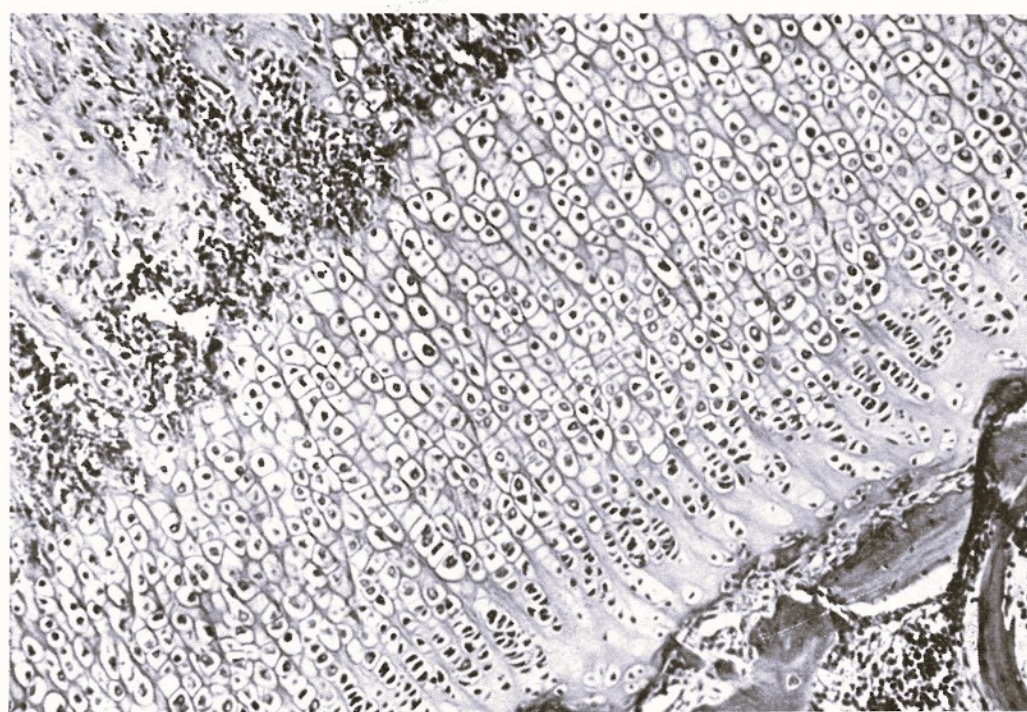


Fig. 20. - Dettaglio di un altro punto della stessa cartilagine (ingr. $\times 100$). Aspetto ipertrofico ed iperplastico specie a carico degli strati cellulari profondi; è bene evidente la abnorme sottigliezza dello strato superficiale « seriato » rispetto al profondo « ipertrofico »; relativa scarsezza della sostanza fondamentale. Aspetto normale dei capillari metafisari.

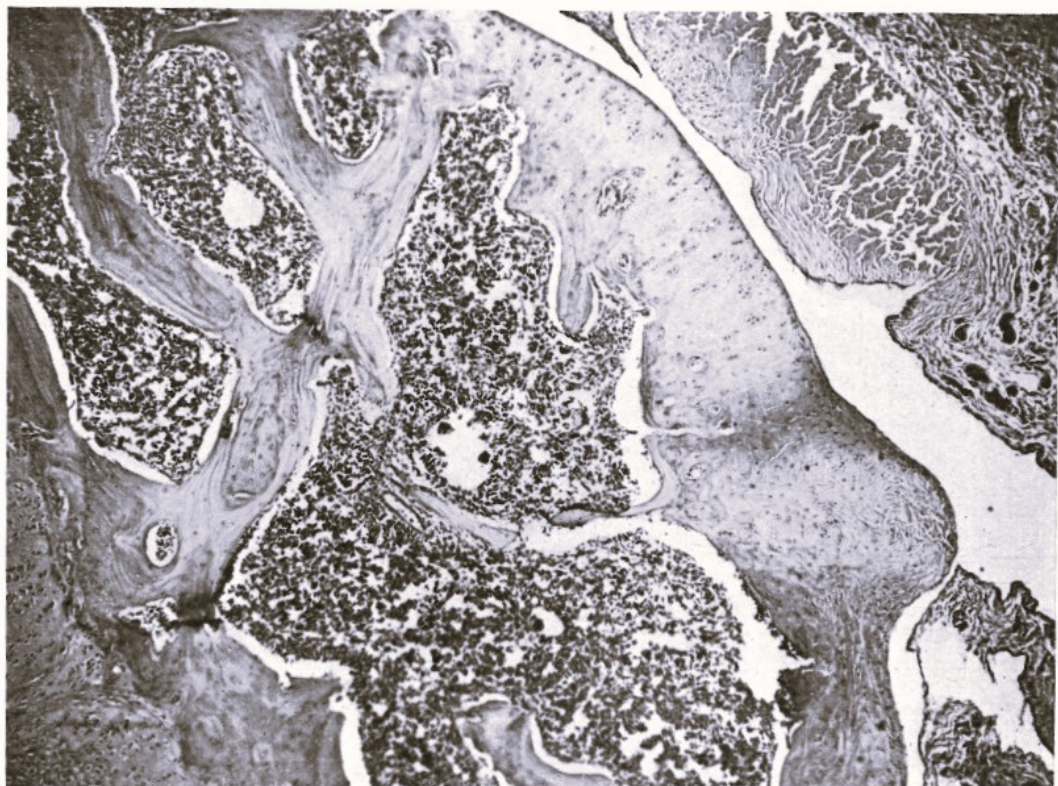


Fig. 21. - Ratto trattato per 75 giorni con STH (ingr. $\times 40$). Veduta panoramica dell'articolazione. Notare, sporgente nella rima articolare, la presenza di una « protuberanza » cartilaginea.

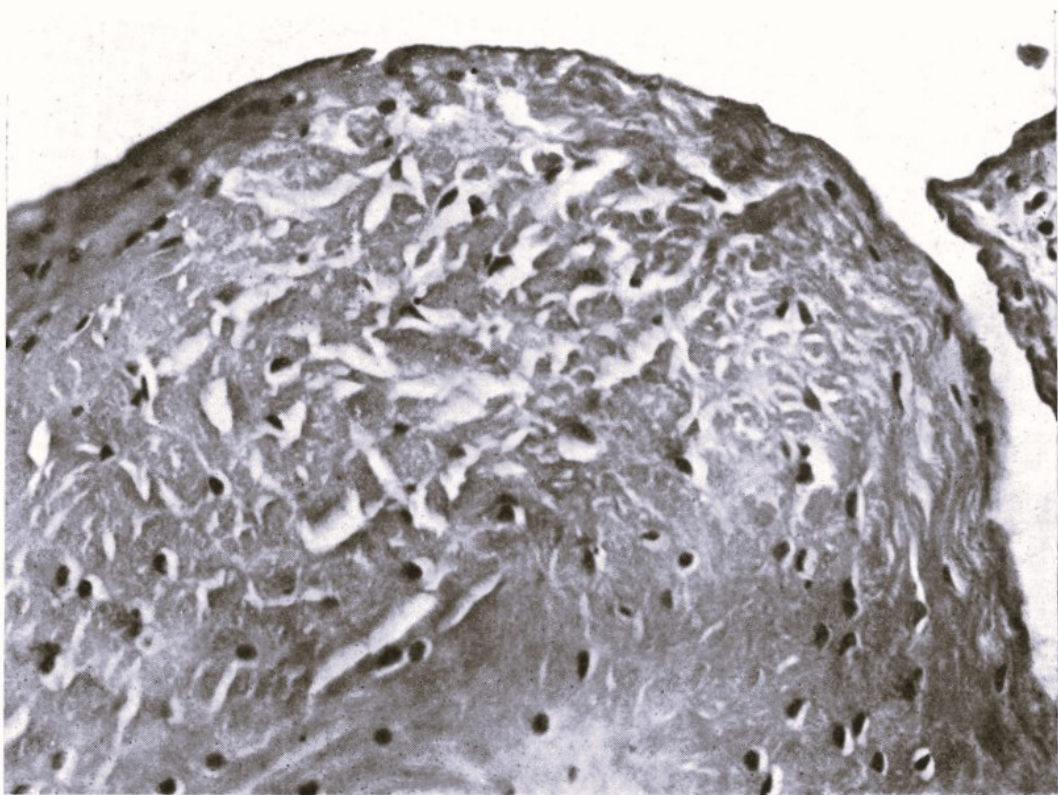


Fig. 22. - Dettaglio fig. precedente (ingr. $\times 100$). La « protuberanza » risulta composta di cellule cartilaginee di varia grandezza e forma, disposte disordinatamente; la sostanza fondamentale interposta presenta numerose soluzioni di continuo. Lateralmente alla sporgenza, sulla destra, l'orlo delimitante la superficie articolare appare eroso.



Fig. 23. - Ratto trattato con STH per 75 giorni (ingr. $\times 40$). Veduta panoramica dell'articolazione. Si nota l'aspetto irregolare della cartilagine e la sporgenza della medesima, in un punto, nella rima. In un'altra zona contigua, sulla sinistra della figura, la cartilagine conserva l'aspetto pressochè normale.

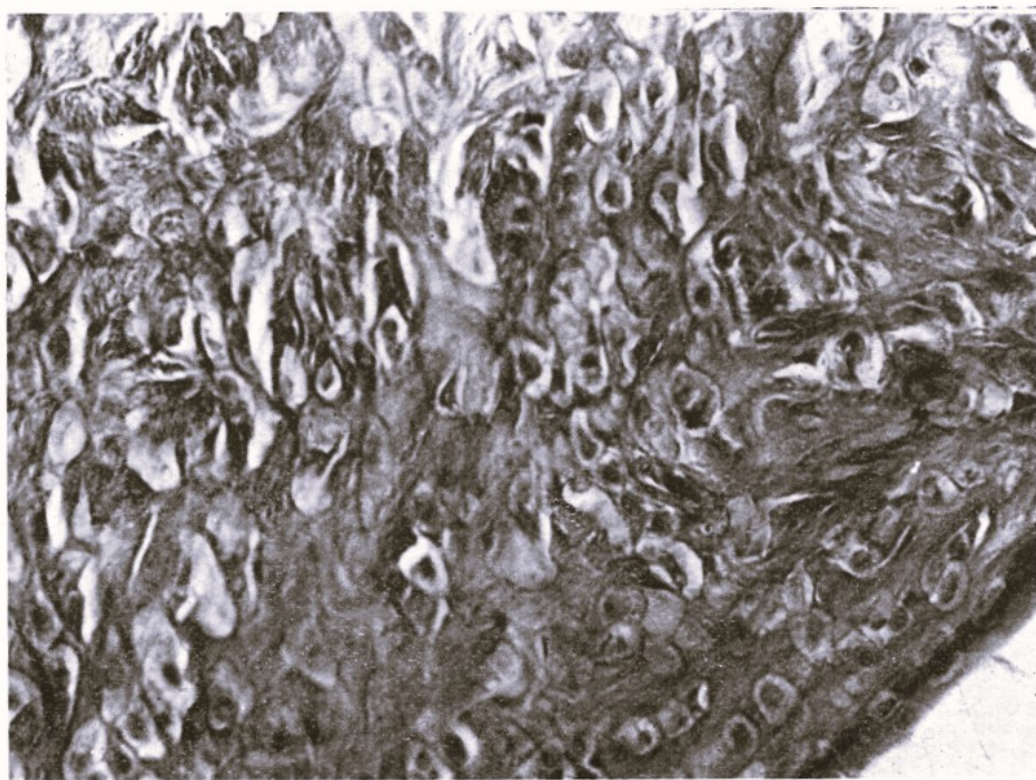


Fig. 24. - Dettaglio della figura precedente (ingr. $\times 300$). Aspetto abnorme per forma, grandezza e disposizione delle cellule cartilaginee e delle loro capsule in seno alla sporgenza descritta nella figura precedente.

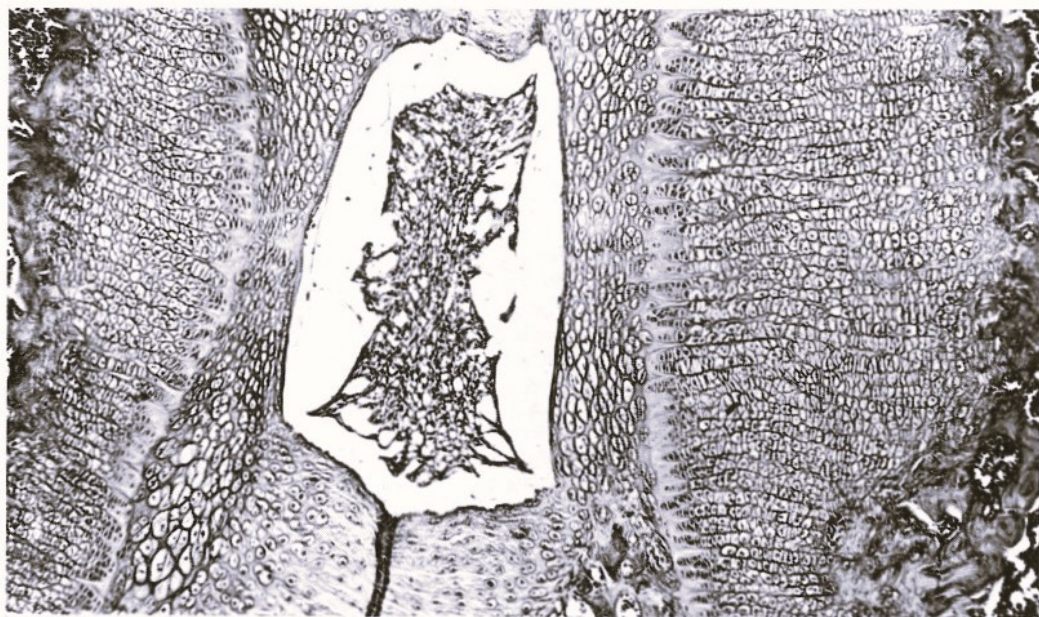


Fig. 25. - Ratto trattato con STH per 75 giorni (ingr. $\times 40$). Veduta panoramica di due corpi vertebrali del tratto lombo-sacrale della colonna e del disco vertebrale interposto. E' evidente il marcato aumento di spessore particolarmente degli strati più profondi delle cartilagini epifisarie; pure aumentate di spessore appaiono le cartilagini articolari subito a ridosso del disco; le due cartilagini risultano contigue, senza interposizione di osso al contrario delle ossa lunghe. Normale la disposizione e l'aspetto dei capillari sanguigni.

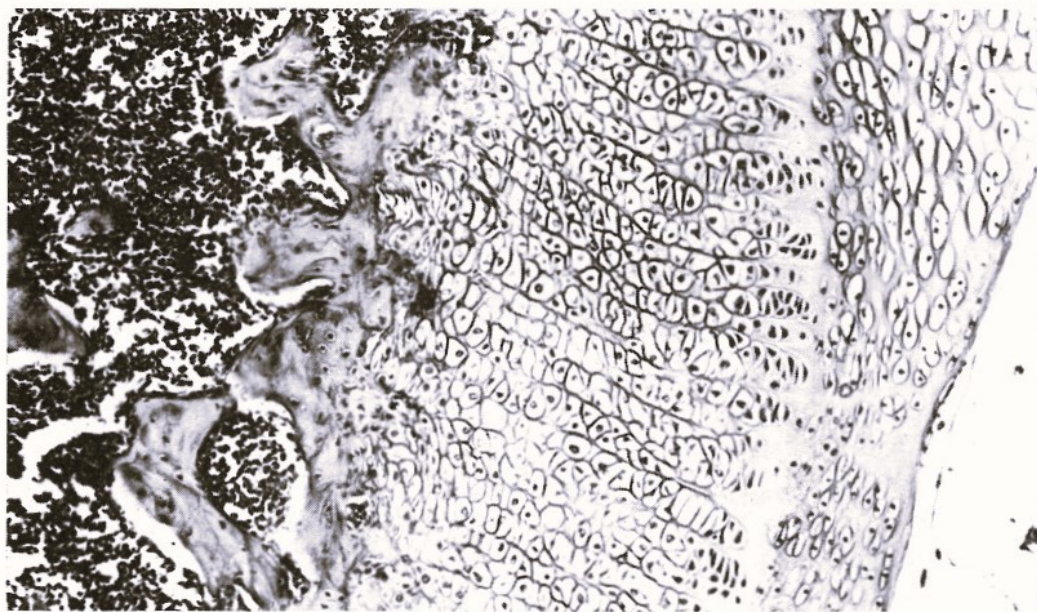


Fig. 26. - Dettaglio fig. precedente (ingr. $\times 100$). Notare la forma e la grandezza abnormi delle cellule degli strati profondi delle cartilagini di coniugazione ed articolare contigue; alcune capsule cartilaginee appaiono vuote. Zona cartilaginea «seriata» assai ridotta e sottile rispetto alla zona profonda «ipertrofica» nella cartilagine di accrescimento; riduzione relativa della sostanza fondamentale intercellulare. Aspetto normale dei capillari.

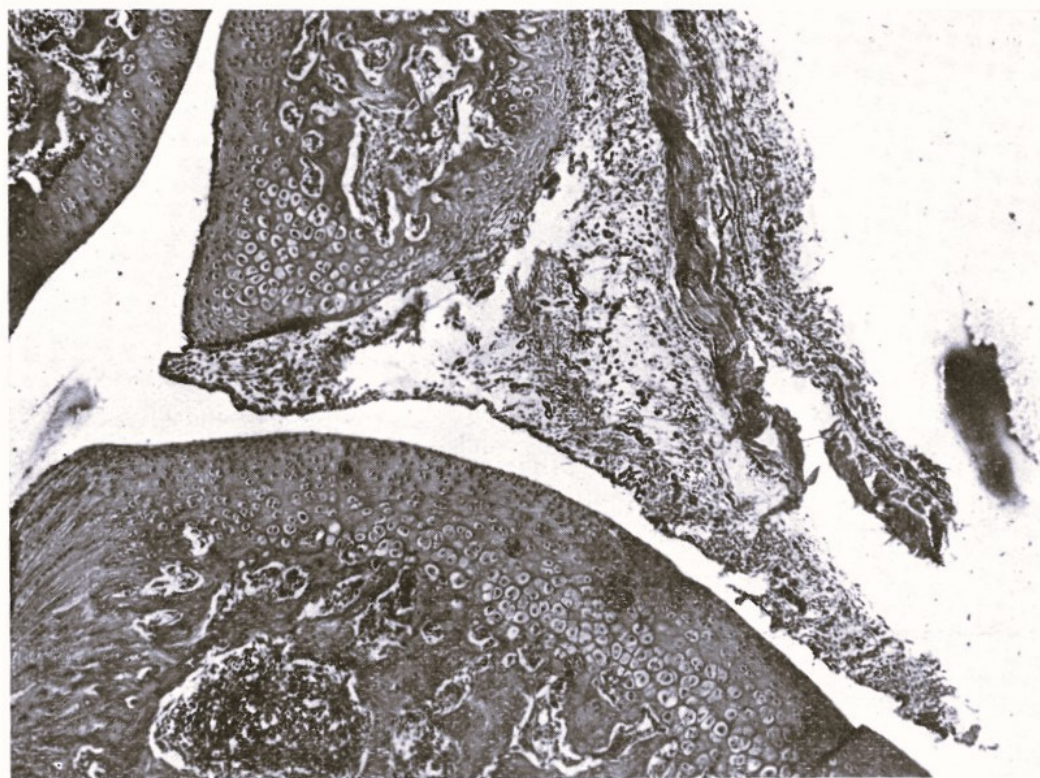


Fig. 27. - Ratto trattato con STH + testosterone per 35 giorni (ingr. $\times 40$). Veduta dell'articolazione del ginocchio. Si scorgono le superfici articolari delle epifisi tibiali e femorale e parte della rotula. Già a questo ingrandimento si nota la disorganizzazione degli strati cellulari, l'abnorme distribuzione ed aggruppamento delle cellule, l'ipertrofia delle capsule cartilaginee negli strati più profondi a ridosso della spongiosa.

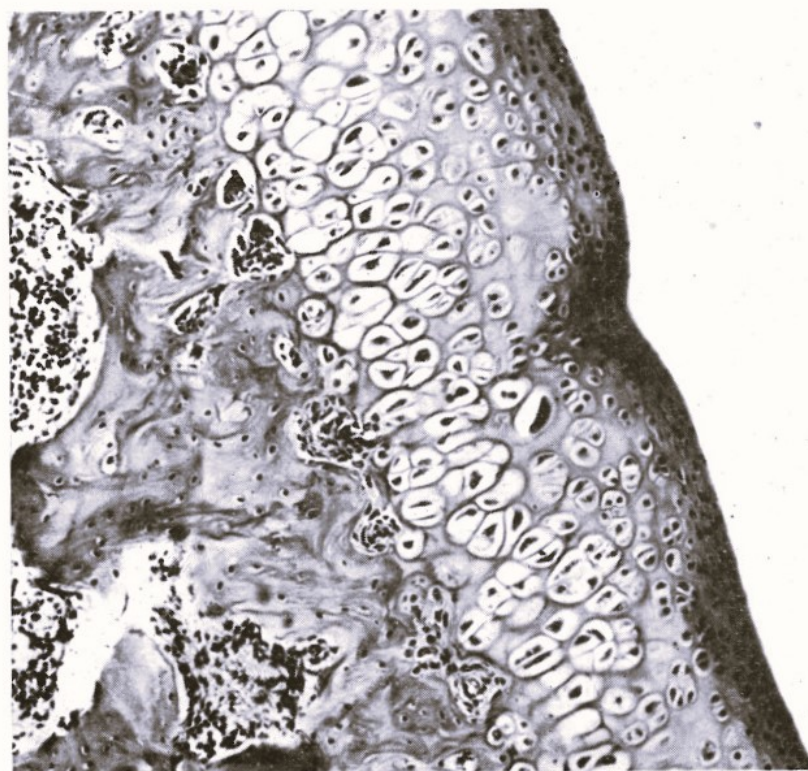


Fig. 28. - Dettaglio fig. precedente (ingr. $\times 100$). Risaltano la dismorfia cellulare e l'aumento di volume delle capsule cartilaginee di cui alcune appaiono vuote; disorganizzazione nella disposizione delle cellule negli strati più profondi.

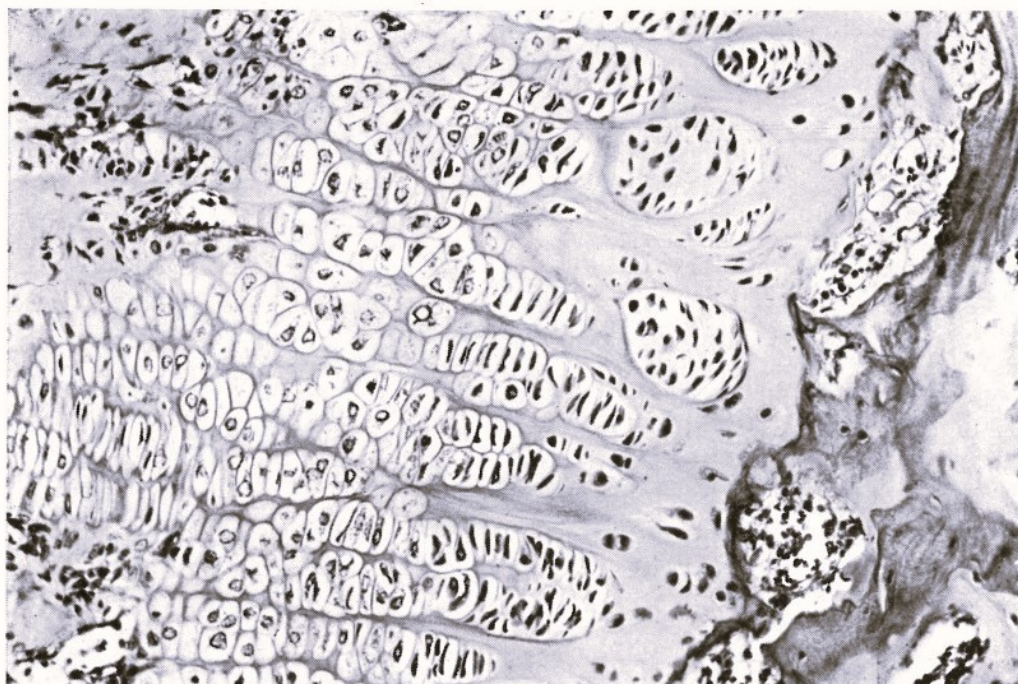


Fig. 29. - Particolare della cartilagine di coniugazione dello stesso ratto (ingr. $\times 100$). Si nota aumento del numero delle cellule segnatamente nello strato « ipertrofico », la differenza nella loro forma e grandezza, le anomalie di tingibilità dei nuclei e del protoplasma e la presenza di capsule cartilaginee vuote.

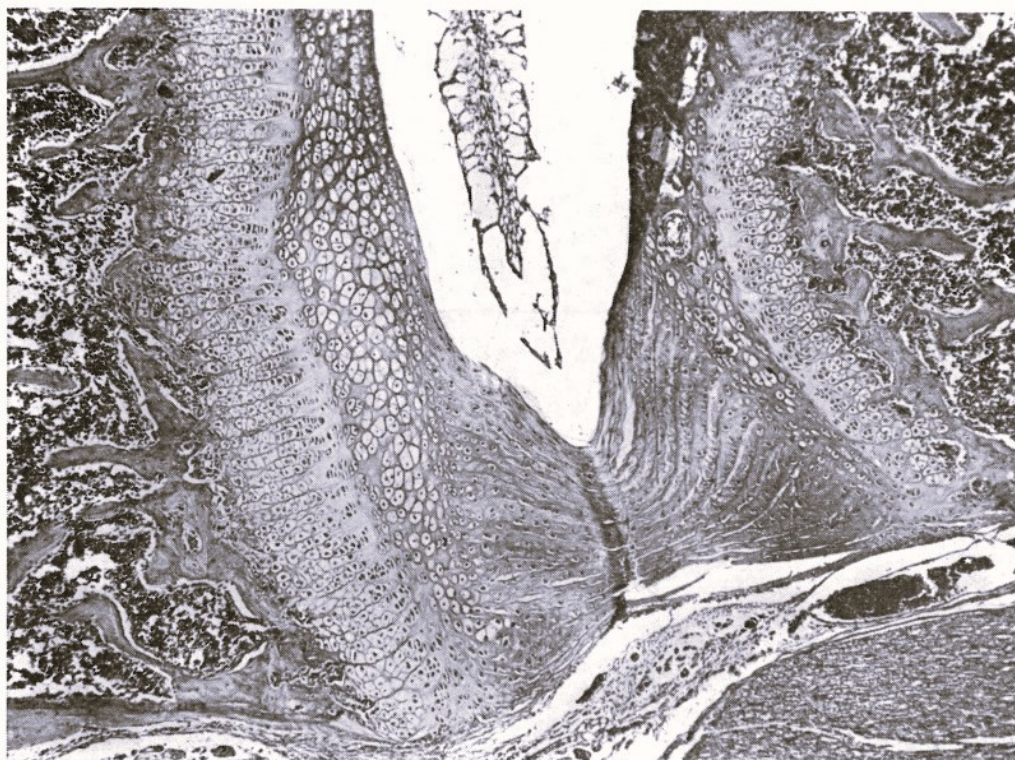


Fig. 30. - Veduta di due corpi vertebrali contigui (tratto lombo-sacrale) e del disco intervertebrale dello stesso ratto della figura precedente (ingr. $\times 40$). Alla periferia della figura (in basso) si scorgono tessuto connettivo ed un frammento muscolare. Si nota un aspetto di maggior spessore delle due cartilagini di coniugazione ed articolare rispetto ai controllo nonostante la relativa brevità del trattamento.

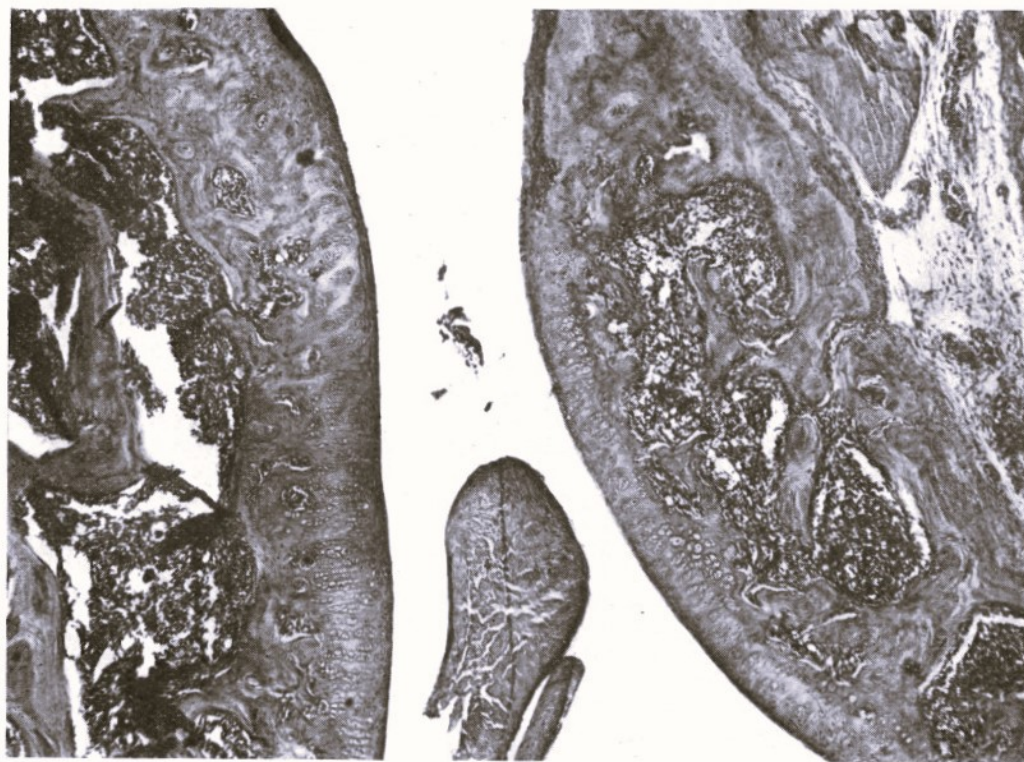


Fig. 31. - Ratto trattato con STH + testosterone per 75 giorni (ingr. $\times 40$). Veduta delle superfici articolari. Nel basso della figura si nota che la disposizione « longitudinale » delle cellule cartilaginee è abbastanza conservata. Nella parte alta della figura invece l'aspetto generale della cartilagine e la disposizione cellulare sono profondamente modificate.

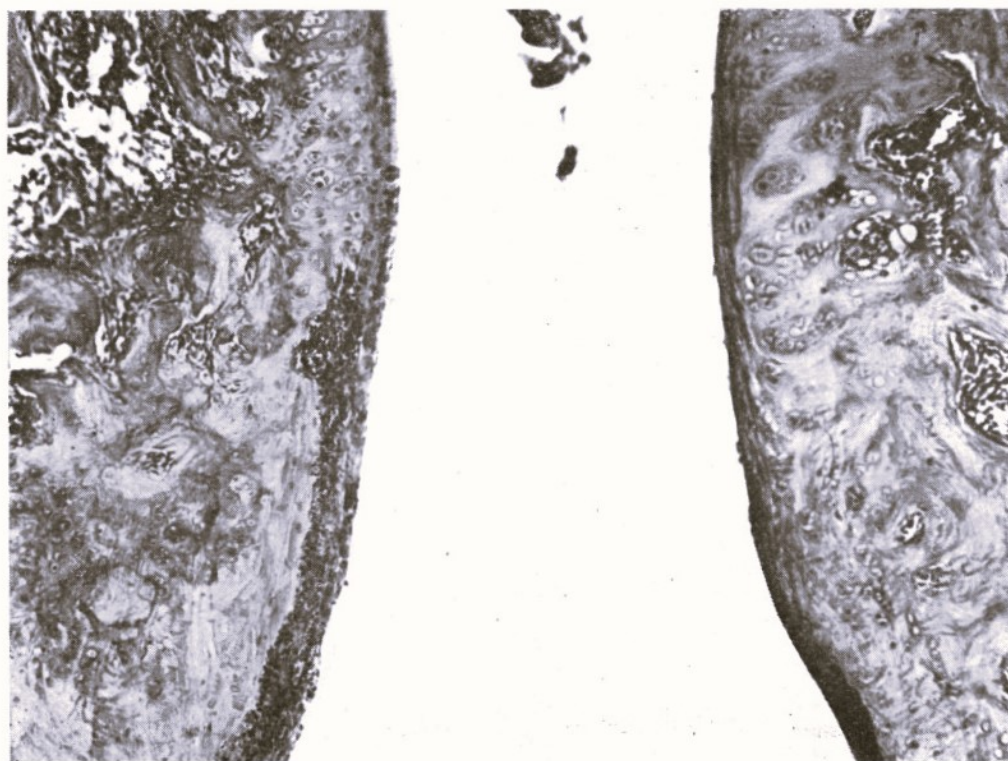


Fig. 32. - Dettaglio della fig. precedente (ingr. $\times 100$). L'architettura delle cartilagini è sconvolta, le cellule sono ora stipate ora pressochè scomparse, la sostanza fondamentale assume disposizione abnorme rispetto agli elementi cellulari; la superficie articolare è ampiamente erosa.

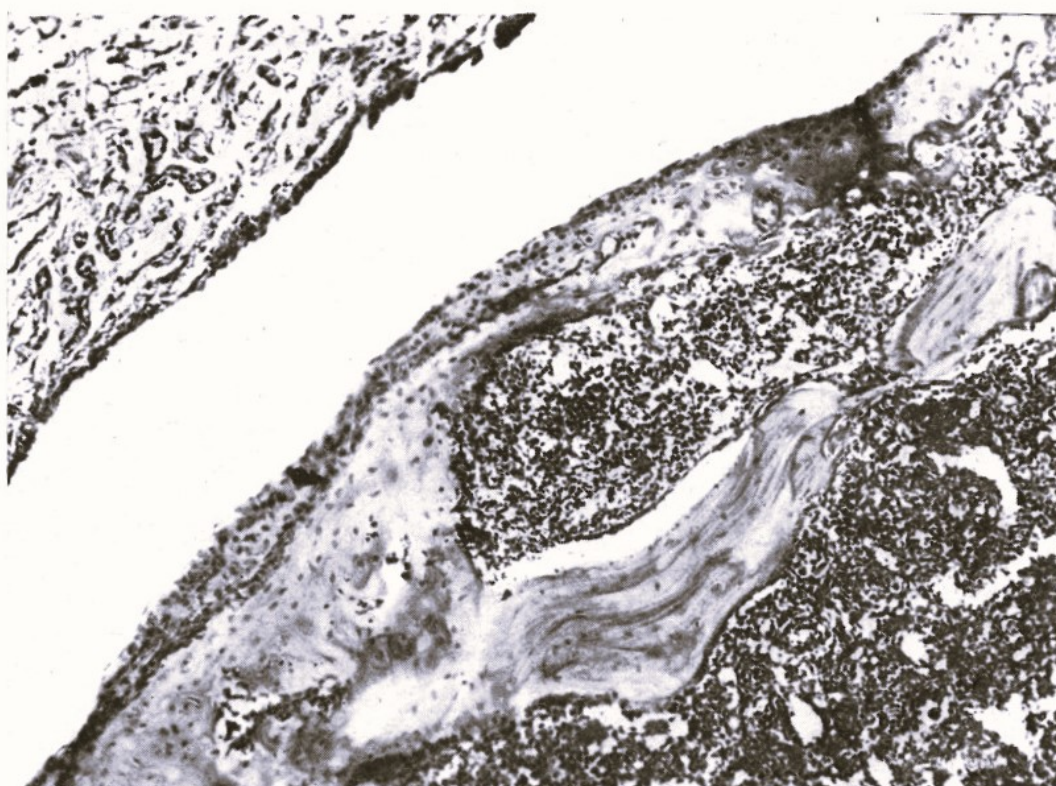


Fig. 33. - Ratto trattato con STH + testosterone per 75 giorni (ingr. $\times 100$). Aspetto della cartilagine di incrostazione ampiamente erosa e con abnorme disposizione, forma e grandezza delle cellule disseminate nella sostanza fondamentale. Nell'angolo superiore sinistro della figura si nota un tratto della capsula articolare.

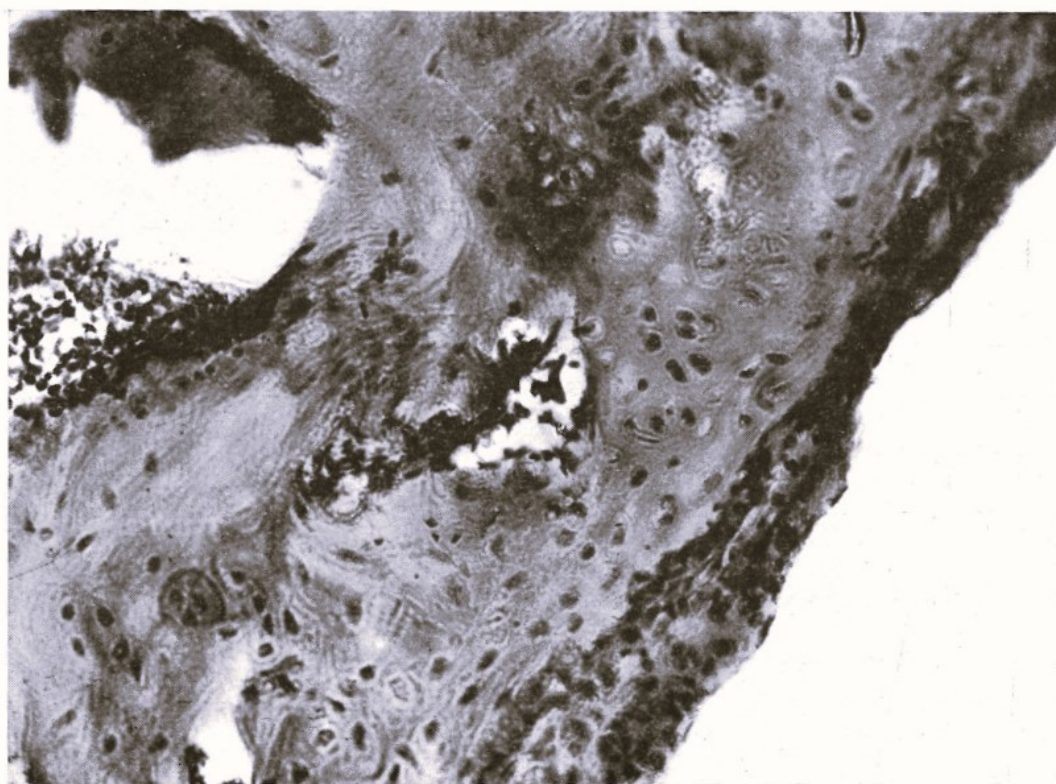


Fig. 34 - Dettaglio fig. precedente (ingr. $\times 300$). Sono ben visibili l'abnorme disposizione delle cellule fra di loro e nei rapporti con la sostanza fondamentale, la scarsa delimitazione o l'assenza delle capsule cartilaginee e l'ampia erosione del margine limitante articolare.

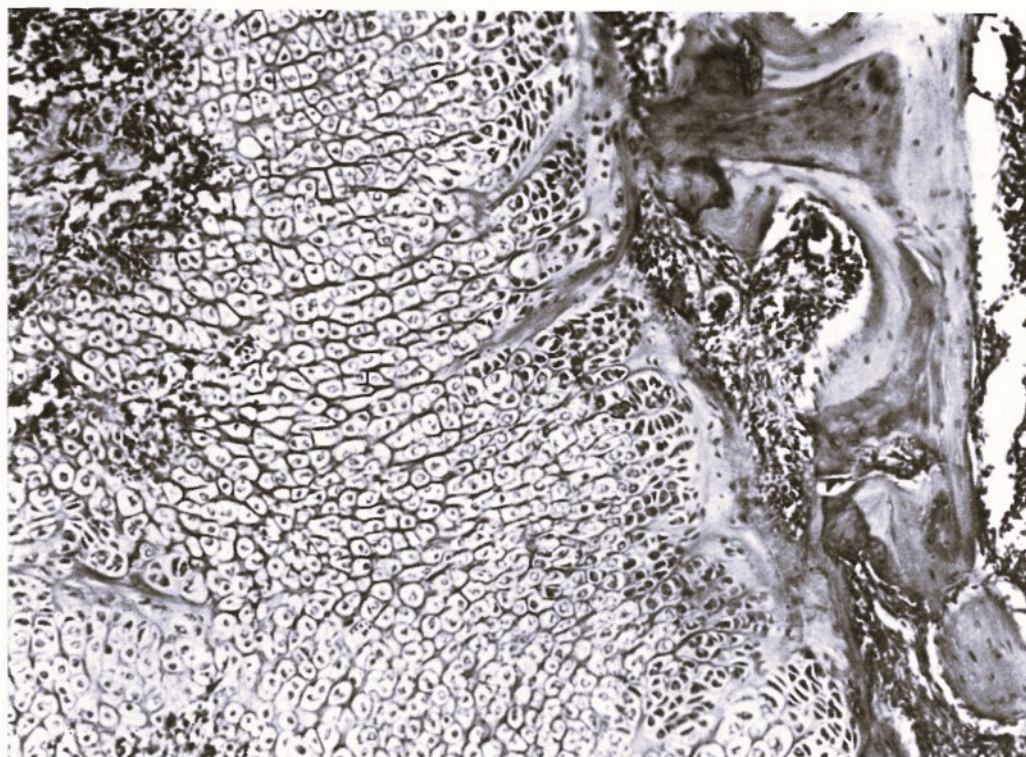


Fig. 35. - Aspetto della cartilagine di coniugazione dello stesso ratto (ingr. $\times 100$). Si nota il marcato aumento numerico delle cellule dello strato « ipertrofico » rispetto a quelle dello strato « seriato » e l'abnorme architettura generale della cartilagine.

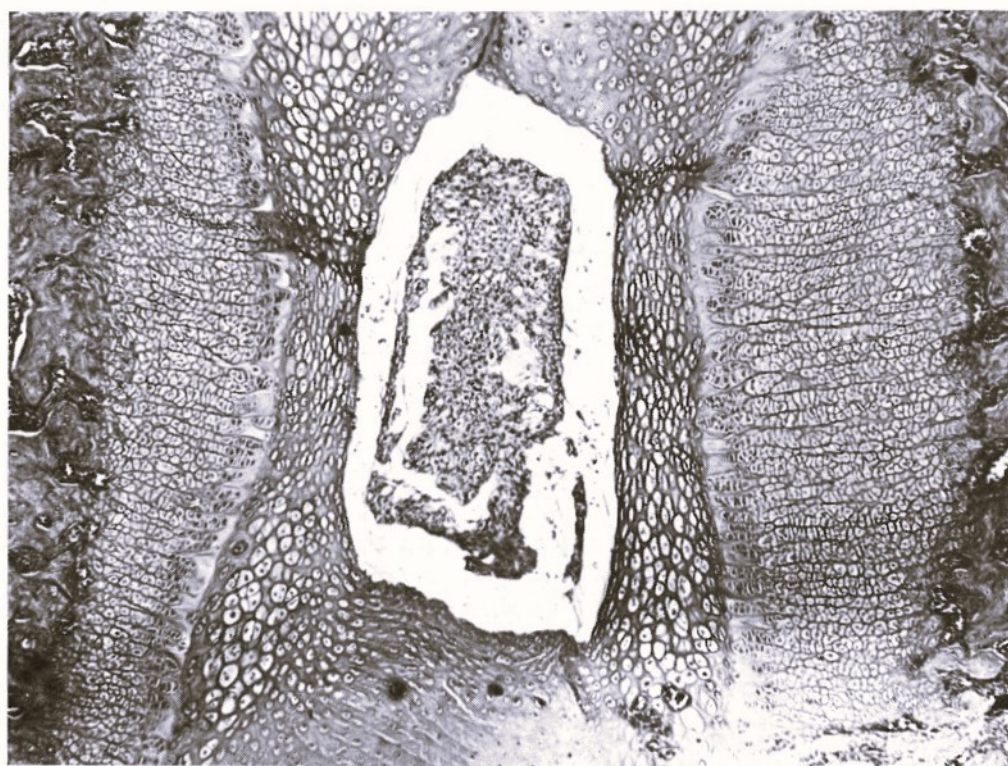


Fig. 36. - Veduta di due corpi vertebrali (tratto lombo-sacrale) e del corrispondente disco dello stesso ratto della figura precedente (ingr. $\times 40$). Si nota l'aspetto ipertrofico ed iperplastico delle cartilagini di coniugazione ed articolari; nei confronti dei ratti trattati con solo STH (fig. 25) il fenomeno appare meno evidente.

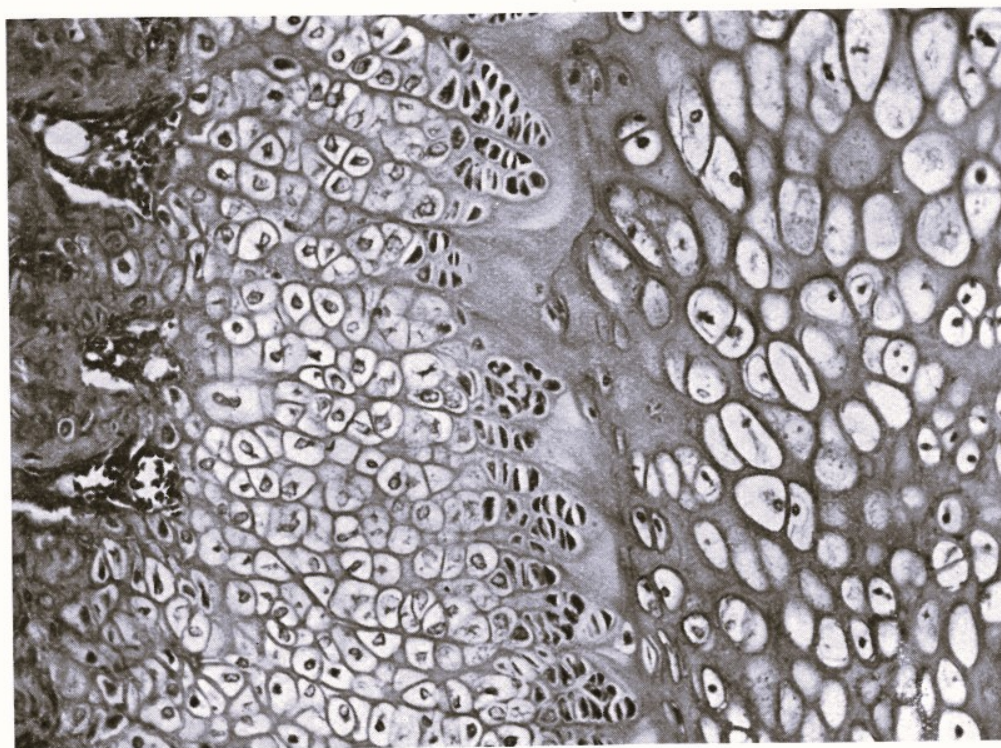


Fig. 37. - Dettaglio della fig. precedente (ingr. $\times 150$). Le cellule appaiono voluminose, di differente forma e grandezza con disuguaglianza di tingibilità dei nuclei e dei protoplasmi; alcune capsule cartilaginee appaiono vuote. Relativamente scarso il numero delle cellule dello strato «seriato» della cartilagine di coniugazione subito a ridosso di quella articolare.

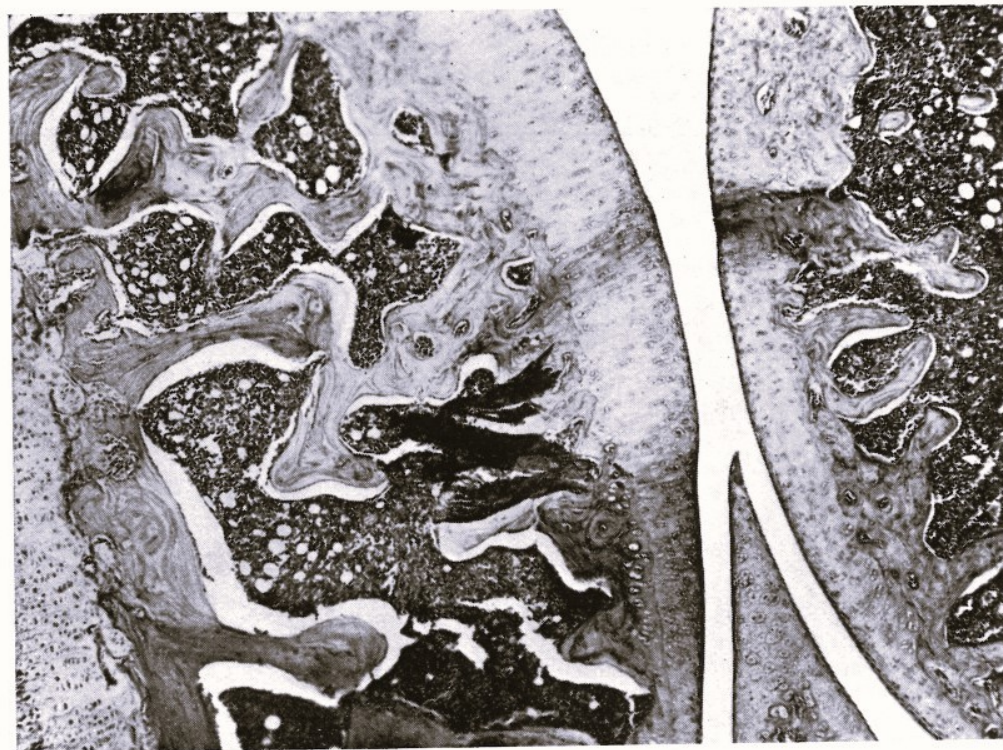


Fig. 38. - Ratto trattato con testosterone per 75 giorni (ingr. $\times 40$). Veduta panoramica della rima, dei capi articolari e delle cartilagini diartrodiali corrispondenti. Aspetto normale.

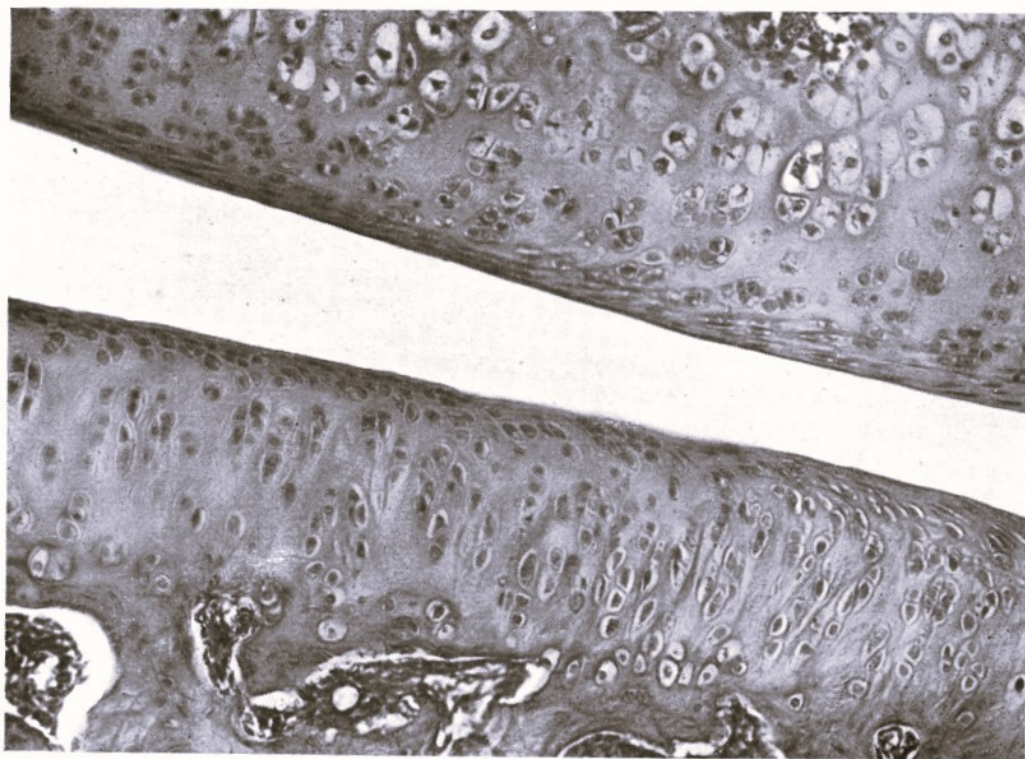


Fig. 39. - Dettaglio della figura precedente (ingr. $\times 100$). Visibile l'aspetto normale, con disposizione longitudinale, delle cellule della cartilagine articolare particolarmente negli strati profondi.

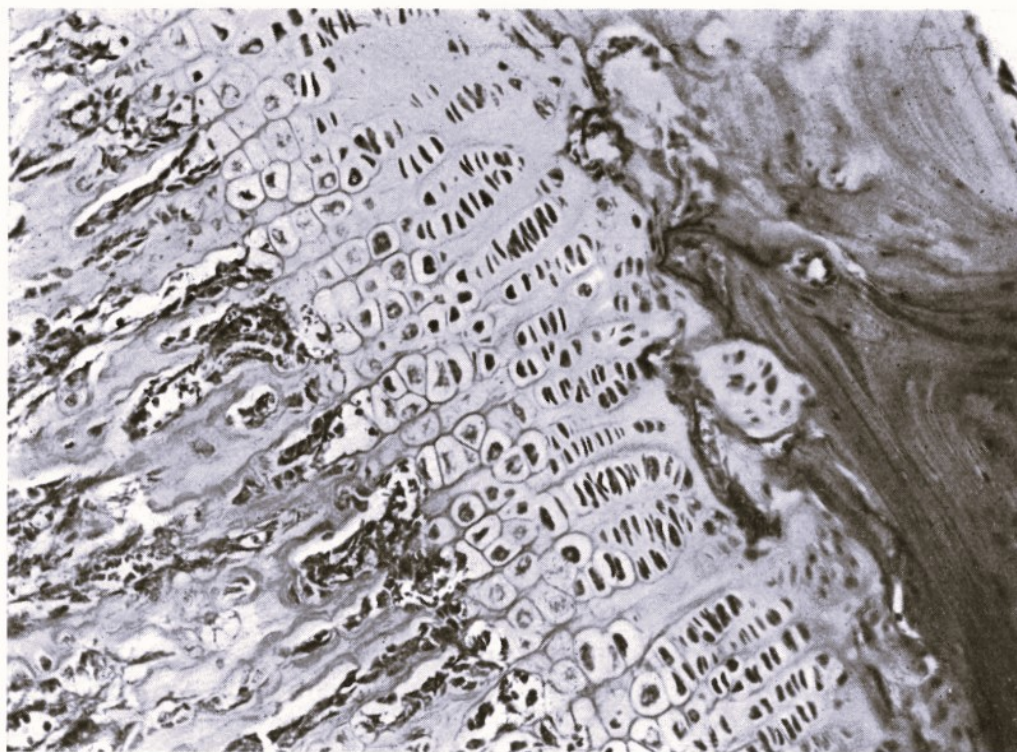


Fig. 40. - Dettaglio della fig. 38 (ingr. $\times 100$). Aspetto « ipoplasico » della cartilagine di coniugazione con riduzione uniforme e proporzionata dei vari strati cellulari. Aspetto normale dei capillari sanguigni.

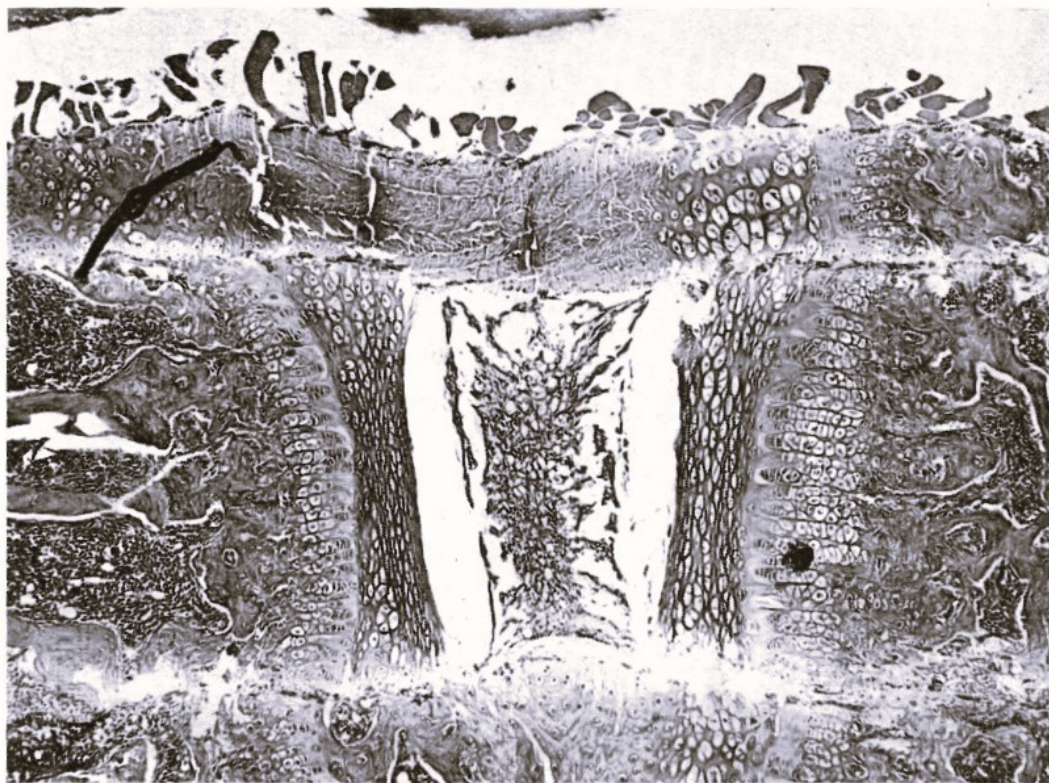


Fig. 41. - Aspecto panoramico di due vertebre e del disco corrispondente dello stesso ratto di cui alle figure 38-39-40 (ingr. $\times 40$).

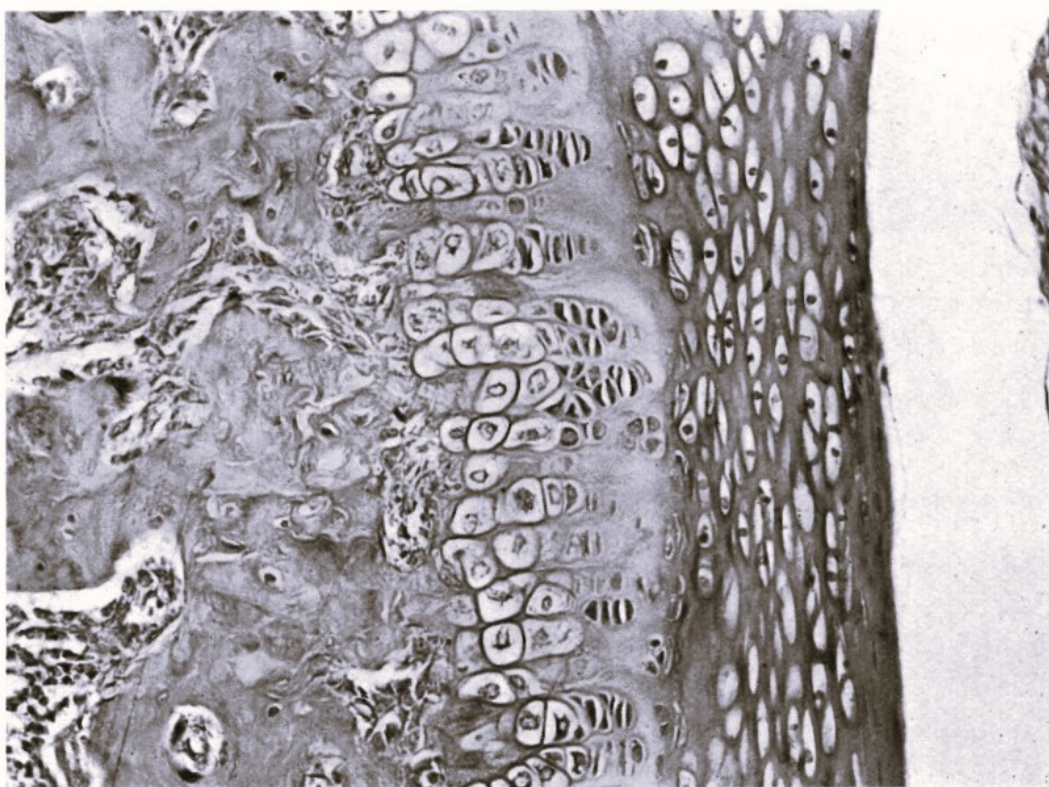


Fig. 42. - Dettaglio della figura precedente (ingr. $\times 150$). Nella cartilagine di coniugazione si può notare una certa riduzione dell'ampiezza di essa per un minor numero di cellule sia nello strato « ipertrofico » che « seriato ». Nulla di rilevante a carico della cartilagine articolare.



Fig. 43. - Ratto rachitico (ingr. $\times 100$). Aspetto anomalo dei vasi sanguigni, tortuosi, che si insinuano irregolarmente negli strati più profondi della cartilagine di coniugazione isolando anche piccoli agglomerati di cellule in via di degenerazione.

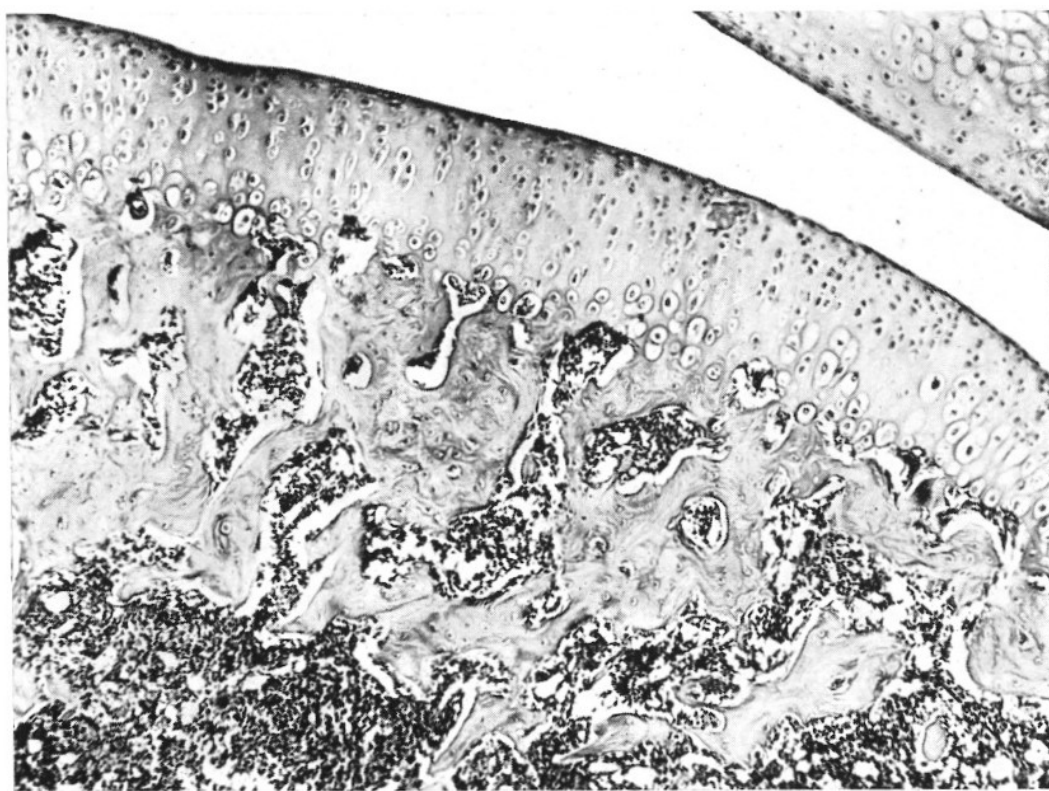


Fig. 44. - Medesimo ratto della figura precedente (ingr. $\times 100$). Aspetto normale della cartilagine articolare che non appare interessata dal processo rachitico.

b) *colonna vertebrale*. — I reperti radiologici a carico di questo settore osseo sono stati nettamente meno appariscenti di quelli descritti per i segmenti ossei di cui al capoverso a).

Infatti nessuna modifica di qualche rilievo si nota, in confronto dei controlli (fig. 2), nelle colonne vertebrali dei ratti trattati rispettivamente con STH (fig. 4) e con testosterone (fig. 7); negli animali sottoposti all'azione simultanea della somatotropina e dell'androgeno si rileva una maggiore radiotrasparenza dei corpi vertebrali che appaiono come sfumati probabilmente in rapporto a fenomeni di decalcificazione (fig. 10).

La piccolezza dell'immagine radiografica, d'altra parte, non permette la descrizione di più fini dettagli.

La fig. n. 11 si riferisce all'esame radiografico di un ratto in accrescimento tenuto in condizioni di illuminazione particolari ed a dieta rachitogena, a giorni alterni, tipo MCCOLLUM e STEENBOCK-BLACK n. 2963 per 30 giorni (COWARD ⁴¹). Sono messe in evidenza le modificazioni della zona metafisaria che appare slargata e la relativa conservazione della forma dei capi ossei articolari. Per un confronto di tale immagine con quella radiografica ed istologica presentata dagli animali trattati con STH e STH + testosterone verrà riferito più ampiamente a pag. 278.

II) *Reperti istologici riguardanti l'articolazione del ginocchio ed il tratto lombo-sacrale della colonna vertebrale.*

I tagli istologici interessavano, nella stessa sezione, l'epifisi distale del femore e prossimale della tibia, la zona articolare, le cartilagini di coniugazione ed articolari corrispondenti. Nella colonna vertebrale i tagli interessavano longitudinalmente i corpi vertebrali ed i dischi intervertebrali corrispondenti.

Le modificazioni riscontrate nel tessuto cartilagineo si sono manifestate, in vario grado, nelle strutture sia della cartilagine diartrodiale che epifisaria:

a) *cartilagine articolare*. — Tenendo presente i dati morfologici dei ratti controllo (figg. 13-14), i rilievi microscopici accertati nei vari gruppi di animali sottoposti all'azione dei vari ormoni sono i seguenti:

In tutti gli animali appartenenti al *gruppo trattato con STH* si sono notate anomalie nella disposizione, nella grandezza e forma delle cellule cartilaginee e della sostanza fondamentale tra esse presenti. Nella cartilagine articolare delle ossa lunghe, invece della normale disposizione longitudinale in serie allungate delle cellule, si è notata una disposizione irregolare; osservando i dettagli a più forte ingrandimento si è potuto

rilevare che tale abnorme disposizione interessa particolarmente gli strati cellulari medi e profondi; le cellule appaiono di grandezza e forma notevolmente differente fra di loro e sono contenute in capsule di aspetto ipertrofico; le capsule stesse sono alle volte stipate con più cellule, altre volte, all'opposto, appaiono vuote. I caratteri tintoriali e di forma sia delle cellule che dei rispettivi nuclei svelano notevole polimorfismo rispetto ai controlli; la sostanza fondamentale intercellulare appare ora più abbondante ora meno a seconda dei tratti interessati (fig. 19-20).

Inoltre, in 2 animali sui 4 di questo gruppo, le alterazioni e l'anomala disposizione delle cellule cartilaginee sono state di una maggiore evidenza; infatti (vedi fig. 21 (*), 22 (*), 23 (**), 24 (**)) in un punto della superficie articolare si sono potuti mettere in evidenza delle « gibbosità » sporgenti nella rima articolare gibbosità che, a forte ingrandimento, sono risultate essere dovute ad iperplasia degli elementi cartilaginei di aspetto notevolmente modificato per forma e grandezza (fig. 22, 24); il sottile orlo cartilagineo, che limita la superficie articolare, appare eroso nelle zone subito circonvicine alle descritte sporgenze, come anche erosioni appaiono in altre zone lontane da tali nodosità iperplastiche.

Nella cartilagine articolare dei corpi vertebrali (³²bis) — dove già l'aspetto normale (figg. 14-17) si discosta da quello ora descritto per le ossa lunghe, aparendo nelle vertebre le capsule cartilaginee e le cellule ivi contenute di aspetto fusato e disposte parallelamente alla superficie del disco intervertebrale — si notano tuttavia gli stessi aspetti di ipertrofia ed iperplasia cellulare (figg. 25, 26) descritti nella cartilagine di incrostazione del ginocchio.

Pressochè analogo è l'aspetto delle cartilagini articolari delle vertebre e del ginocchio nel gruppo di ratti *trattati simultaneamente con STH + testosterone* per 30-35 [figg. 27, 28 (***)] o per 75 giorni [figg. 31, 32, 33, 34 (****)]. Possiamo aggiungere che negli animali trattati per solo 35 giorni l'entità delle alterazioni istologiche è stata meno marcata di quanto rilevato in quelli trattati più a lungo mentre in questi ultimi animali si sono trovate modificazioni microscopiche maggiori che non negli animali trattati con sola somatotropina salvo che all'altezza dei corpi vertebrali (fig. 36).

Negli animali sottoposti all'azione del solo ormone androgeno l'a-

(*) La corrispondente immagine radiografica, appartenente cioè al medesimo ratto, è quella rappresentata dalla fig. 3.

(**) La corrispondente immagine radiografica, appartenente cioè al medesimo ratto, è quella rappresentata dalla fig. 5.

(***) La corrispondente immagine radiografica, appartenente cioè al medesimo ratto, è quella rappresentata dalla fig. 8.

(****) La corrispondente immagine radiografica, appartenente cioè al medesimo ratto, è quella rappresentata dalla fig. 9.

spetto delle cartilagini articolari nelle varie sezioni osservate [figg. 38, 39 (*)] non si è allontanata dall'aspetto normale tanto nell'articolazione del ginocchio che nei corpi vertebrali.

Facciamo notare che in nessun altro gruppo di ratti, oltre in quelli di cui si è detto, è stato possibile riscontrare nelle numerose sezioni istologiche esaminate, proliferazioni circoscritte a tipo di « gibbosità » come quelle descritte in due dei quattro animali trattati con STH.

b) cartilagine di coniugazione. — Anche per la cartilagine epifisaria valgono, in generale, le osservazioni fatte sulle alterazioni osservate nella cartilagine articolare; anche qui sono presenti differenze nella intensità e distribuzione di dette alterazioni nei diversi gruppi di animali.

Nei ratti *trattati con STH* la cartilagine di accrescimento, tanto nelle ossa lunghe che nelle vertebre, si è mostrata assai più ampia (figg. 19, 20, 25, 26) che nei controlli (figg. 14, 16, 17) e con disposizione irregolare delle cellule cartilaginee così da alterare il più delle volte l'usuale aspetto seriato di esse e ciò particolarmente in alcuni punti (fig. 19).

E' di notevole rilievo inoltre l'osservazione che il rapporto tra lo spessore dello strato « seriato » e quello dello strato « ipertrofico », che normalmente è di circa 1:1, si è modificato, in questo gruppo, nel rapporto di circa 1:6 a vantaggio dello strato « ipertrofico ».

L'aspetto ipertrofico e iperplastico della cartilagine si è riscontrato con evidenza anche nel gruppo di ratti *trattati con la somministrazione combinata di STH + testosterone*; anche qui gli esami microscopici a forte ingrandimento hanno mostrato che l'iperplasia cellulare interessa precipuamente gli strati profondi, sia quelli della cartilagine di accrescimento delle ossa lunghe che quelli delle vertebre (figg. 29, 35, 36).

All'opposto nei ratti *trattati con il solo androgeno* (figg. 40, 41, 42) l'aspetto della cartilagine è abbastanza regolare se pure essa si presenti come « ipoplasica » con uniforme riduzione degli strati cellulari rispetto sia ai ratti trattati con STH + androgeno che ai controlli.

In tutti i gruppi di animali trattati il limite inferiore della cartilagine di coniugazione, confinante con la metafisi, è stato per lo più netto, con scarse sinuosità e l'aspetto dei vasi sanguigni non si è discostato nei ratti inoculati da quello presentato dai controlli ed, in questi ultimi, dalla norma.

Le microfotografie delle figg. 43, 44 si riferiscono al ratto rachitico il cui radiogramma è rappresentato nella fig. 11 e su di esse si tornerà più avanti.

(*) La corrispondente immagine radiografica, appartenente cioè al medesimo ratto, è quella rappresentata dalla fig. 6.

Richiamiamo l'attenzione sul fatto che le alterazioni da noi riscontrate nella cartilagine dei ratti sottoposti a trattamento ormonale ed interessanti, come si è detto, sia la parte cellulare che, in minor grado, la sostanza fondamentale interposta non sono state sempre diffuse ugualmente su tutta l'estensione della sezione microscopica osservata ma hanno avuto aspetto di maggiore evidenza in alcuni tratti mentre in altri, pur assai vicini alla zona alterata, le lesioni sono state meno evidenti o addirittura mancanti. Possiamo dire, con espressione sintetica, che le modificazioni istologiche apparse in una stessa sezione si sono presentate con disposizione per così dire *focale* e che le alterazioni articolari sono state sempre bilaterali. E' inoltre da notare che non ci è occorso rilevare modificazioni istologiche di una qualche consistenza ed interesse in zone limitrofe a quelle delle cartilagini di coniugazione; del pari nessuna produzione osteo-cartilaginea è stata rilevata (oltre alle « gibbosità » descritte) ai limiti della superficie articolare con la periferia dell'osso ed a carico del periostio. Questi rilievi valgono tanto per l'articolazione del ginocchio che per la colonna vertebrale all'altezza della quale non ci è stato dato di mettere in evidenza addensamenti ossei marginali dei corpi spondiloidei già rilevati da altri AA. (3, 15).

CONSIDERAZIONI E SOMMARIO

I dati raccolti nella presente esperienza si prestano a considerazioni sul comportamento in vita, sui rilievi radiologici, anatomopatologici macroscopici e microscopici degli animali.

Per comodità di esposizione e, ci sembra, per una più facile comprensione preferiamo analizzare i risultati ottenuti prendendoli in esame nella seguente disposizione:

I) RILIEVI SUL COMPORTAMENTO GENERALE DEI RATTI, SUL PESO E LUNGHEZZA CORPOREA.

Durante l'esperienza abbiamo osservato che gli animali sottoposti a trattamento con STH e quelli sottoposti all'azione del testosterone hanno presentato un comportamento generale privo di particolari rilievi; la vivacità, le condizioni del peso, la capacità di alimentarsi e di reagire agli stimoli esterni non si sono discostati da quanto osservato nei controlli. Solo è da rilevare che gli animali del gruppo STH hanno presentato, dopo alcune settimane di esperienza, un discreto grado di ispessimento e di indurimento dei tessuti cutanei e sottocutanei delle

zone dove si praticavano le iniezioni (¹⁵); lo stesso reperto si è avuto negli animali sottoposti al trattamento combinato STH + testosterone. Non vi sono stati invece reperti simili negli animali trattati con solo ormone androgeno nelle zone interessate dalle ripetute iniezioni. Saremmo propensi a ritenere che l'STH, in analogia con l'azione esplicata dal DOCA, abbia esercitato uno stimolo sclerogeno sui connettivi delle zone iniettate; non abbiamo riscontrati, in nessuno degli animali trattati, rammollimenti ascessuali nelle zone interessate dalle punture.

Diverso invece è stato il comportamento, rispetto ai controlli, degli animali sottoposti all'azione combinata STH + androgeno; in questo gruppo di animali si è notata fin dalla 2^a-3^a settimana di esperienza una diminuita vivacità spontanea e tuttavia una aumentata aggressività con intolleranza verso gli stimoli esterni; il loro pelo si è fatto rado e ruvido.

Il comportamento degli animali perciò che riguarda il peso corporeo e la lunghezza è stato differente nei vari gruppi.

Un confronto, perciò che riguarda il peso, si può stabilire tra gli animali controllo e quelli che furono sottoposti al trattamento con STH; dalla tabella I, che dà i pesi iniziali e finali degli animali, potrebbe sembrare, ad una prima osservazione, che nessuna differenza vi sia stata al termine dell'esperimento tra i due gruppi di animali e che quindi poco abbia influito l'ormone somatotropo da noi adoperato sulla crescita corporea. Ma ben differentemente si debbono valutare i fatti se noi osserviamo il grafico n. 1 che dà l'andamento della curva ponderale durante tutta l'esperienza; noi constatiamo facilmente che il gruppo dei ratti inoculati con ormone somatotropo ha presentato un accrescimento corporeo più rapido e maggiore in confronto di quello dei ratti controllo nel primo mese e mezzo di esperienza; poi l'accrescimento ponderale, in coincidenza con la somministrazione di dosi quotidiane massive di somatotropina, ha subito una flessione sicchè il peso degli animali trattati con STH, regredendo, si è avvicinato, al termine della esperienza, al valore finale del peso dei controlli. La spiegazione di tale comportamento può trovarsi sia nella somministrazione terminale di dosi invero molto elevate, ad azione « chetogenica » (³³, ³⁴) e forse tossica (⁷), dell'ormone oppure nell'ipotesi della provocazione negli animali, ad un dato punto dell'esperienza, di uno stato di adattamento (³⁵) oppure con l'ipotesi della formazione di sostanze ad « azione antiormonica » (DE GENNES ¹¹) che abbiano limitata l'azione « anabolizzante » alla somatotropina.

Il comportamento del peso dei ratti trattati con ormone *androgeno* ha seguito da vicino quello dei controlli con differenze di scarso rilievo.

Comportamento invece nettamente differente si è avuto nel lotto di

animali trattati con STH + androgeno. L'esame della curva del peso che riguarda i 2 ratti che raggiunsero la fine dell'esperienza (vedi grafico 1) mostra chiaramente il ritardo nell'aumento ponderale presentato da questi 2 animali rispetto ai controlli; così pure l'aumento del peso nei 2 ratti che morirono prima della fine dell'esperienza risultò inferiore a quello raggiunto dagli stessi animali controllo nel medesimo periodo di tempo (confronta grafici 1 e 2).

Riassumendo: dal punto di vista del peso nei nostri esperimenti gli animali trattati con solo STH hanno avuto una precoce e rapida crescita

TABELLA I

Peso e lunghezza corporea nei vari gruppi di animali all'inizio ed alla fine dell'esperienza

Gruppi	Numero di animali (^o)	Trattamento (*)	Peso in gr.			Lunghezza in cm. (**)		
			Inizio	Fine	Differenza	Inizio	Fine	Differenza
1	4	Controllo	92 ± 2	166 ± 3	+ 74	25 ± 1	32	+ 7
2	4	STH	92 ± 1	167 ± 3	+ 75	25	32	+ 7
3	4	Testosterone	92 ± 1	160 ± 2	+ 74	25 ± 1	30	+ 5
4	4	STH + Testosterone	a, 92 ± 1	123 ± 5	+ 40	25	29 ± 1	+ 4
			b, 91	95 ± 1	+ 5	25	26	+ 1

(*) Nel gruppo 4 i valori in a) si riferiscono ai due animali giunti alla fine dell'esperimento; i valori in b) ai due animali morti dopo 30-35 giorni di esperienza.

(**) L'STH (Choay) è stato usato liofilizzato e con l'attività di almeno 10 Unità Evans per mgr. di sostanza. Il testosterone propionato (Ciba) è stato usato in soluzione oleosa. Le dosi singole adoperate di volta in volta e la modalità di introduzione sono specificate nel testo.

(***) Dal naso alla punta della coda.

da principio, seguita poi da un arresto e da una parziale regressione ponderale; quelli trattati con solo testosterone subirono oscillazioni ponderali, mantenendosi però molto vicini alla curva dei controlli; nettamente influenzati, in senso sfavorevole, furono invece gli animali trattati con la duplice somministrazione STH + androgeno ed il loro peso rimase notevolmente al disotto di quello dei controlli; dobbiamo notare che questi ultimi dati della nostra esperienza si discostano da quanto rilevato nel topo (KOCHAKIAN³⁶) per cui l'associazione dei due ormoni è atta a produrre una sommazione degli effetti anabolici, sul ricambio proteico, pecu-

liari di ciascuno dei due ormoni « per sè »; si potrebbe ritenere, all'opposto, che tale associazione abbia resi più evidenti, nei nostri animali, le proprietà « cataboliche » sui grassi riconosciuto pure a ciascuno dei due ormoni e segnatamente all'STH tenendo presente, tuttavia, che tale somministrazione di effetti nei riguardi del metabolismo lipidico non è riconosciuta da taluni ricercatori (TREMOLIÈRE ³⁷). Forse, anche in questo gruppo di animali, è da tenere presente la già ricordata azione chetogenica e tossica dell'STH a forti dosi.

I dati ricavati dalla misurazione della lunghezza corporea mostrano che i ratti trattati con STH hanno raggiunto lunghezze simili a quelle dei controlli; la lunghezza degli animali sottoposti a trattamento con testosterone è rimasta leggermente inferiore ai controlli; nettamente lontani come sviluppo corporeo dai valori dei controlli, sono rimasti i ratti sottoposti a simultaneo trattamento con STH + androgeno in analogia con il grave deficit ponderale accusato da questi animali (vedi Tab. I).

II) RILIEVI RIGUARDANTI L'ESAME MACROSCOPICO ED IL PESO DELL'IPOFISI SURRENI E TESTICOLI.

Dal punto di vista macroscopico non si sono avuti rilievi in genere molto appariscenti; dati più evidenti sono raccolti invece nella Tabella II da cui risulta che il peso degli organi in esame, negli animali controllo, di poco è rimasto inferiore a quello riportato nelle ricerche di DONALDSON (³⁸) per ratti normali dello stesso peso di quello finale raggiunto dai nostri.

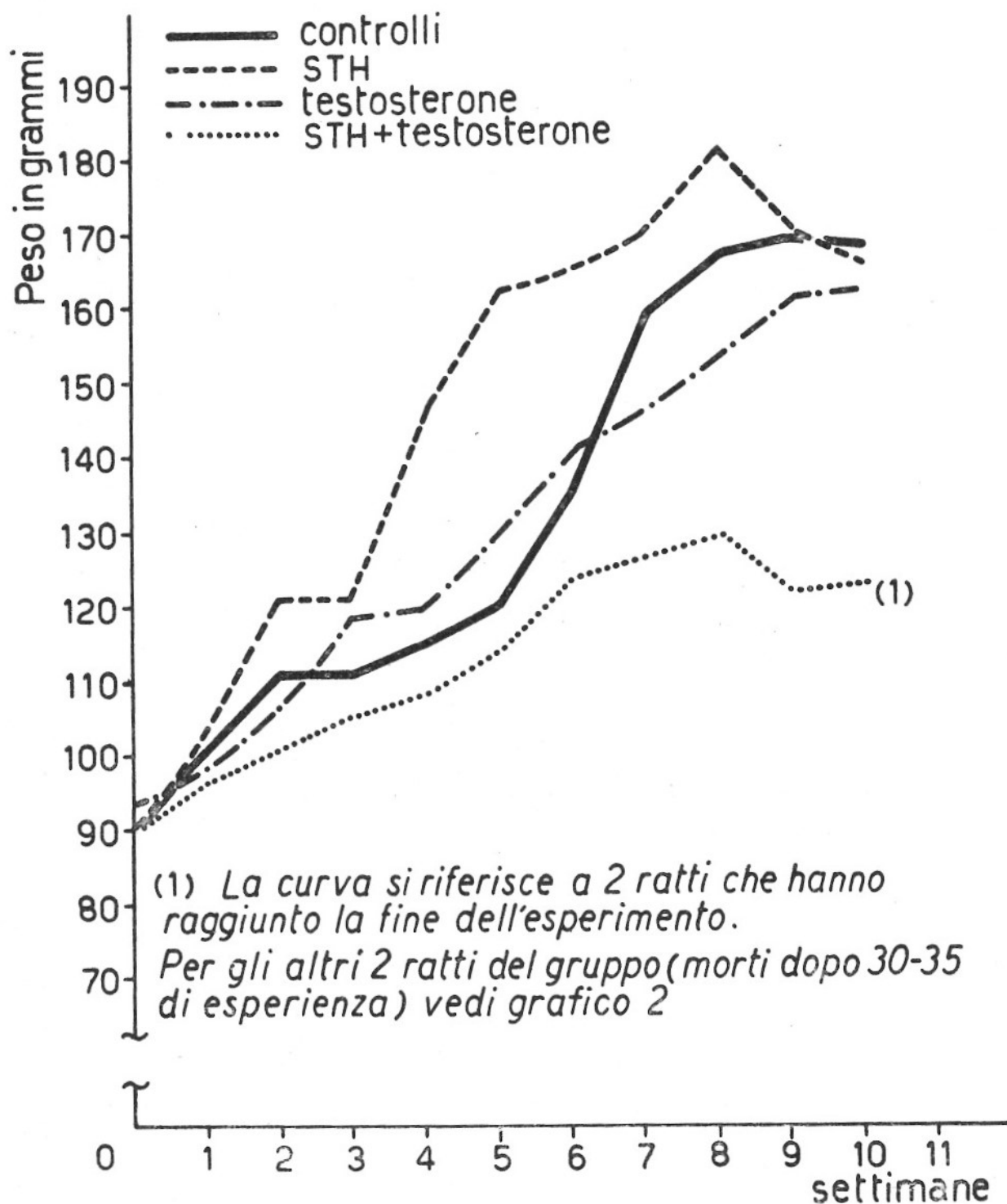
TABELLA II

Pesi medi dell'Ipofisi, Surreni, Testicoli degli animali alla fine dell'esperienza.

Gruppi	N. di animali	Trattamento	Ipofisi in mgr.	Surreni mgr.	Testicoli in gr.
1	4	Controllo	5,7 ± 0,4	28 ± 3	2,196 ± 0,040
2	4	STH	50 ± 0,6	40 ± 13	1,032 ± 0,020
3	4	Testosterone	4,5 ± 1,1	33 ± 5	2,039 ± 0,083
4 *	4	Testosterone	a) 4,8 ± 0,2	50 ± 4	1,508 ± 0,210
		STH +	b) 3,1 ± 0,1	30 ± 2	0,685 ± 0,005

* Vale la nota (*) già riportata nella Tabella I.

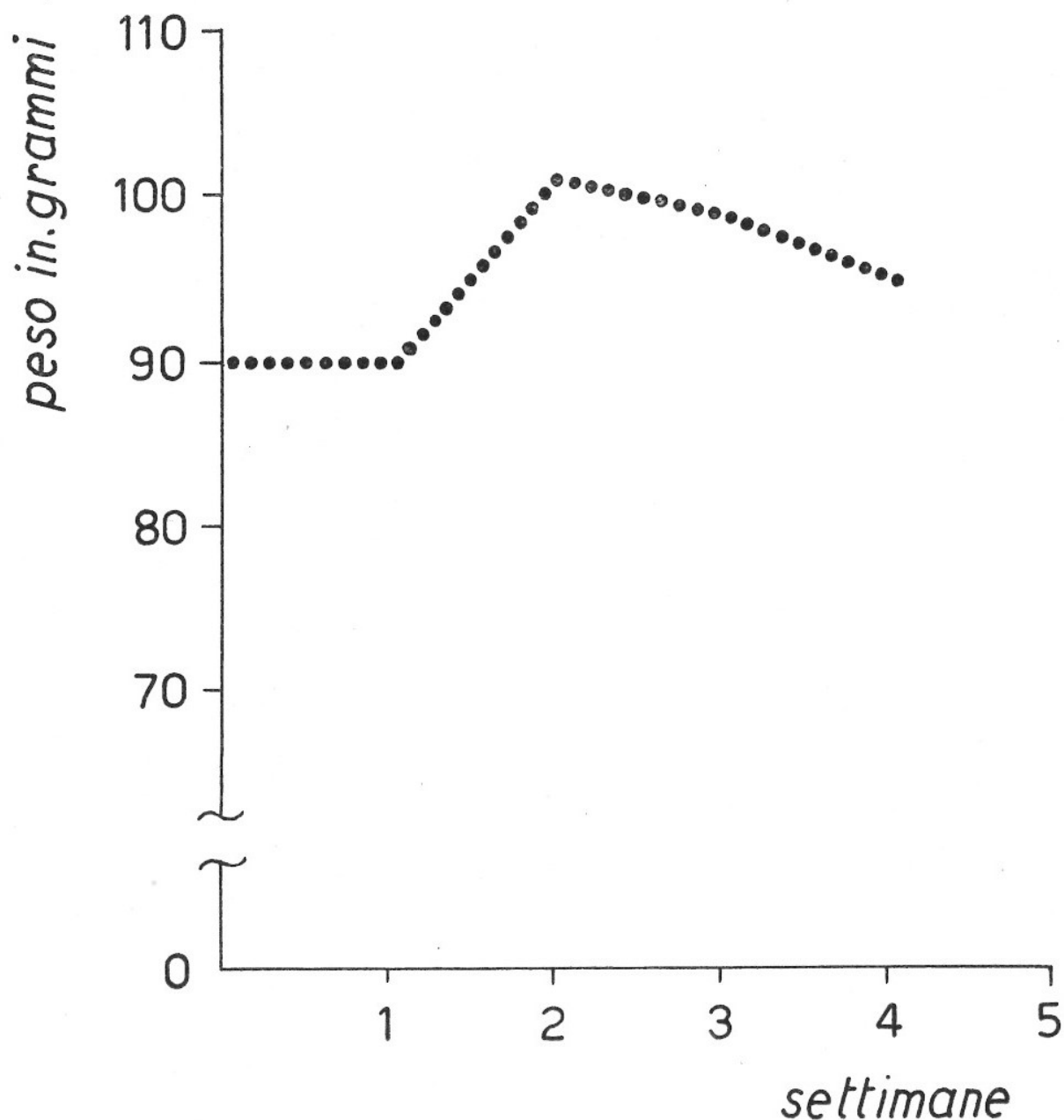
Nel gruppo di ratti trattati con *ormone somatotropo* si è rilevato che il peso medio dell'ipofisi è stato di poco inferiore a quello presentato dai controlli; è ciò in accordo con la nozione di un'azione moderatamente inibente dell'STH nei riguardi dell'ipofisi ⁽¹⁵⁾. All'opposto, e secondo quanto affermato anche da SELYE ⁽⁶⁾ sull'effetto corticotropo della



Graf. 1. - Comportamento del peso corporeo nei vari gruppi di animali durante l'esperienza protratta per 75 giorni

somatotropina, si è potuto rilevare un aumento del peso delle surrenali degli animali trattati rispetto ai controlli.

Perciò che riguarda il peso medio dei testicoli abbiamo notato all'autopsia che l'STH ha in genere prodotto un impicciolimento in detti



Graf. 2. - Comportamento del peso corporeo in due ratti morti al 35° giorno di esperienza

organi; in alcuni animali poi si è potuto rilevare che mentre uno dei testicoli appariva di forma e consistenza pressochè uguale a quella dei controlli, l'altro testicolo si presentava assai impicciolito e di aspetto come « gelatinoso » e di consistenza assai inferiore a quella dei controlli; non sono stati però eseguiti esami microscopici dettagliati. In complesso

il peso medio dei testicoli è risultato di circa la metà inferiore a quella dei controlli. Ciò dimostra inoltre indirettamente la purezza dell'ormone somatotropo da noi usato, esente da commisti fattori gonadotropici che, se presenti nel preparato, avrebbero impedito o limitato con la loro azione trofica l'impicciolimento delle ghiandole genitali.

Anche nel gruppo di ratti trattati con *testosterone* il peso medio dell'ipofisi è stato leggermente inferiore a quello dei controlli e noi non abbiamo potuto constatare quel notevole aumento di volume dell'organo osservato da altri AA. come, ad esempio, dopo trattamento con estrogeni (CONRI). Ci sembra che qui si sia avuto piuttosto una « inibizione » della ghiandola forse legata all'elevata dose di ormone sessuale maschile iniettata negli animali. Il testosterone, all'opposto, ha prodotto un discreto aumento del peso medio dei surreni rispetto agli animali controllo, analogamente all'azione corticotropa esercitata dall'estradiolo (SELYE ⁶). Irrelevante è stata l'azione dell'androgeno sul peso dei testicoli dei ratti trattati che è risultato di pochissimo inferiore ai controlli.

Infine i dati rilevati nei ratti che ricevettero il trattamento combinato *STH* + *testosterone* hanno mostrato, tanto negli animali che furono trattati per 75 giorni quanto in quelli trattati per 30-36 giorni, una lieve diminuzione dell'ipofisi rispetto ai controlli e rispetto (per i 2 animali premorti) al peso dell'ipofisi di animali normali di uguale grandezza (DONALDSON) di quelli in esame.

Il comportamento dei surreni, come si è constatato per gli altri gruppi esaminati, è stato contrassegnato da un marcato aumento del loro peso, dato già assai evidente nei 2 ratti morti al 30-35 giorno di esperienza e di peso corporeo notevolmente inferiore a quello dei controlli; questi 2 animali hanno mostrato un peso dei surreni da superare addirittura, anche se è di poco, quello degli animali controllo di sviluppo corporeo ben maggiore; si potrebbe ritenere, dai rilievi fatti almeno nei riguardi dei surreni, che tra l'ormone somatotropo e l'androgeno vi sia stata un'azione di « potenziamento ».

Perciò che riguarda l'azione della terapia ormonica combinata sullo sviluppo dei testicoli abbiamo potuto notare, come già nel gruppo di animali trattati con solo *STH*, una notevole riduzione di peso dagli organi genitali; sembrerebbe quindi, in tal caso, che l'azione predominante sia stata quella esplicata dalla somatotropina, che già negli animali trattati con questo solo ormone aveva mostrato effetto « inibente » sullo sviluppo del testicolo.

In conclusione dai reperti descritti risulta che l'*ipofisi* si è mostrata modicamente impicciolita in tutti i gruppi di ratti che hanno ricevuto trattamento ormonale; i *testicoli* degli animali sottoposti all'azione del-

l'androgeno hanno presentato valori ponderali circa dello stesso ordine di quello dei controlli, mentre marcata diminuzione del peso delle gonadi è stata riscontrata nei ratti trattati con STH e con STH + androgeno.

Comportamento differente si è avuto nei *surreni*, i quali hanno mostrato un ingrandimento, seppur di differente entità, in tutti i ratti trattati; l'aumento ponderale è stato particolarmente evidente negli animali trattati con STH + testosterone.

III) RILIEVI SUI REPERTI ISTOLOGICI

I reperti istologici sono stati tra i più ricchi di dati in questa nostra indagine.

Le alterazioni che l'ormone somatotropo ha indotto nelle cartilagini di incrostazione e di coniugazione dei ratti trattati con solo STH sono state fondamentalmente quelle stesse già rilevate, come abbiamo detto all'inizio di questa nota, in precedenza da altri AA.

La proliferazione delle cellule cartilaginee, segnatamente negli strati profondi delle due cartilagini, la disorganizzazione nella disposizione delle cellule stesse rispetto al normale atteggiamento più o meno « seriato » ed a « pile », la abnorme grandezza e deformità delle capsule, l'assenza totale o la presenza di più cellule nella stessa capsula con caratteri istomorfologici abnormi (forma delle cellule e del nucleo), una certa sproporzione quantitativa in alcuni punti tra la sostanza amorfa fondamentale e gli elementi cellulari, sono stati gli elementi di fatto riscontrati in tutti e quattro gli animali del gruppo trattato con ormone somatotropo (fig. 18, 19).

Ma, oltre a constatare questi dati istopatologici comuni, ci è stato possibile osservare all'altezza della *cartilagine articolare*, in due dei quattro ratti trattati con somatotropina, una peculiare proliferazione delle cellule ed una alterata disposizione della sostanza fondamentale limitrofa; dette alterazioni ipertrofiche e degenerative hanno prodotto sporgenze dalla superficie cartilaginea nel cavo articolare come è chiaramente visibile nelle microfotografie n. 21, 22, 23, 24; il reperto descritto non ci risulta sia stato già menzionato da precedenti ricerche di altri AA.

Da notare anche, in vari punti della superficie articolare e particolarmente nelle zone viciniori alle descritte sporgenze, la presenza di tratti in cui l'orlo cartilagineo sottile e continuo, che limita normalmente la superficie articolare, è interrotto da aree di erosione.

Analogamente a quanto già fatto notare sia da LUCHERINI e Coll. che da precedenti AA., (¹, ², ³, ¹⁵, ¹⁶) non possiamo a nostra volta sottrarci all'idea suggestiva che l'insieme delle alterazioni morfologiche riscon-

trate nella compagine delle cartilagini articolari a seguito di trattamento con ormone somatotropo siano molto vicine, se non proprio sovrapponibili, a quanto noi già conosciamo e siamo soliti rilevare in alcuni stadi della malattia umana artrosi.

Perciò che riguarda l'aspetto istologico della *cartilagine di coniugazione* dei ratti trattati con STH, possiamo dire che anche in esso risalta un'evidente iperplasia degli strati cellulari e segnatamente di quello cosiddetto delle « cellule ipertrofiche » e si è notata inoltre una disposizione irregolare delle cellule stesse che non hanno conservato il normale aspetto seriato (figg. 19, 20, 25).

L'aspetto dei vasi sanguigni metafisari è apparso invece normale in corrispondenza della zona di accrescimento in tutte le sezioni istologiche esaminate, di qualsiasi ratto sia di controllo che sottoposto all'azione dei vari ormoni.

Dopo trattamento con ormone androgeno la *cartilagine di coniugazione* si è mostrato, uniformemente in tutti i suoi strati, più sottile e come « ipoplasica » in confronto dei controlli (figg. 40, 41, 42).

Nulla di rilevante si è trovato invece, dopo trattamento con l'androgeno, a carico delle *cartilagini articolari* (figg. 38, 39, 41).

Le modificazioni ottenute a seguito di trattamento simultaneo STH + testosterone rientrano, in linea generale, nello stesso ordine di quelle provocate dalla somministrazione della sola somatotropina.

Infatti la somministrazione combinata dei due ormoni ha provocato l'insorgenza di alterazioni cartilaginee che possono raggrupparsi in due categorie, per cui:

a) le modificazioni istologiche hanno interessato parimenti la *cartilagine articolare* e quella di *accrescimento* ma con maggiore evidenza e ricchezza di reperti nelle ossa lunghe che non nelle vertebre.

b) le modificazioni istologiche a carico delle cartilagini delle ossa lunghe (segnatamente le cartilagini articolari) sono state negli animali trattati per 75 giorni con STH + androgeno di grado più accentuato di quelle provocate negli analoghi distretti anatomici dal trattamento con solo STH.

Per ciò che si riferisce al punto a) l'esame a confronto delle microfotografie n. 31, 32, 33, 34 con quelle n. 36, 37 e con i rispettivi controlli mostra che, almeno nei due animali sopravvissuti più a lungo, le modificazioni di spessore, la disorganizzazione cellulare e le modificazioni di rapporti delle cellule stesse con la sostanza fondamentale delle cartilagini, e particolarmente di quella articolare del ginocchio, sono più marcate di

quelle riscontrate nelle cartilagini articolari, e di accrescimento delle vertebre.

E' evidente però la difficoltà di interpretare in maniera univoca l'insieme di questi dati così da poter comprendere per quale ragione la somministrazione di effetti tra somatotropina ed androgeno sia stata operante in prevalenza all'altezza delle cartilagini articolari ed epifisarie delle ossa lunghe e non, con altrettanta evidenza, in corrispondenza delle zone cartilaginee dei corpi vertebrati.

Possiamo prospettare l'ipotesi, circondandola però da ampie riserve, che il differente comportamento istologico rilevato negli animali del gruppo IV tra le cartilagini delle ossa lunghe e quelle delle vertebre possa esser messo in rapporto non esclusivamente con un effetto sinergico dei due ormoni insieme somministrati ma anche, in parte, con differenti condizioni di statica e con differenti sollecitazioni dinamiche di maggior peso ed importanza sulle ossa lunghe e sulle grandi articolazioni degli arti rispetto alla colonna vertebrale.

Per ciò che si riferisce al punto b) possiamo osservare (confronta figg. 32, 33, 34, 36, 37 con figg. 8, 20, 23, 26) che nelle ossa lunghe la proliferazione delle cellule e lo sconvolgimento della citoarchitettura negli strati profondi delle due cartilagini, particolarmente però in quella riscontrata nelle corrispondenti cartilagini degli animali sottoposti per uguale periodo al solo trattamento con STH; anche le lesioni della superficie articolare — erosioni — risultano assai più marcate.

E' bensì vero che è mancata nelle numerose sezioni microscopiche esaminate l'evidenza di « sporgenze » o « gibbosità » sulla superficie articolare simili a quelle descritte solo in alcuni degli animali inoculati con ormone somatotropo, tuttavia questo reperto non ci sembra che possa impedire di formulare l'ipotesi che si sia verificato nei nostri esperimenti, un potenziamento di azione della somatotropina ad opera dell'androgeno, dato, come si è detto, che a seguito della somministrazione simultanea dei due ormoni si sono provocate all'esame istologico alterazioni nella cartilagine (specie in quella articolare) più evidenti che non a seguito della esclusiva somministrazione di STH; tale rilievo non è però integralmente riportabile anche alle cartilagini dei corpi vertebrali (vedi figg. 25-36).

Sembra dunque si debba ritenere, dal complesso dei dati ora esposti, che l'ipotesi enunciata nella prima parte di questo lavoro, e cioè che l'ormone sessuale maschile eserciti un'azione inibente sull'effetto esplicato dall'ormone somatotropo nei riguardi del tessuto cartilagineo, non abbia trovato chiaro e totale conforto dall'esperienza attuale.

Cade opportuno, a tal proposito, ricordare l'opinione della SIMPSON

e coll. per cui nell'animale si può ottenere, con somministrazione di androgeno, un potenziamento dello stimolo alla crescita della cartilagine di coniugazione dovuta all'ormone somatotropo, essendo però tale fenomeno in funzione delle dosi di ormone sessuale maschile favorendo le piccole dosi l'azione stimolante dell'STH, inibendola le dosi elevate. Nel nostro caso, d'altra parte, sembra problematico poter ammettere che 2 mg di testosterone costituiscano una dose debole per ratti di peso corporeo dell'ordine di quello degli animali prescelti per l'esperienza.

E' infine difficile di chiarire, con la metodica adoperata nelle nostre esperienze, se il suaccennato probabile aumento d'azione dell'STH unito al testosterone sia da riportare ad un effetto di stimolazione *centrale* (all'altezza cioè dell'ipofisi) da parte dell'androgeno con susseguente iperproduzione di somatotropina naturale in unione a quella artificialmente introdotta; oppure ad un'azione di potenziamento reciproco tra i due ormoni alla *periferia* (all'altezza cioè degli stessi tessuti). A noi sembra tuttavia che la prima alternativa sia meno attendibile, tenuto conto di quanto precedentemente detto sulla riduzione ponderale dell'ipofisi da noi riscontrata nei ratti trattati con STH + androgeno.

4) RILIEVI RIGUARDANTI L'ESAME RADIOGRAFICO DELLE ARTICOLAZIONI DEL GINOCCHIO E DELLA COLONNA VERTEBRALE. CONFRONTO CON I DATI ISTOLOGICI E CON LE LESIONI RACHITICHE SPERIMENTALI.

Facendo adesso una breve valutazione dei reperti radiografici ed un confronto con i dati istologici possiamo dire, almeno per ciò che riguarda la colonna vertebrale e gli spazi intersomatici, che l'indagine radiologica tenuto conto della difficoltà di interpretare radiogrammi riferibili ad immagini anatomiche assai piccine ed a lesioni macroscopiche invero assai poco appariscenti, non ha messo in evidenza modificazioni chiaramente apprezzabili qualora si eccettui una certa maggiore radiotrasparenza dei corpi vertebrali nei ratti trattati con STH + testosterone e riportabile probabilmente a scarsità di sali di calcio (fig. 10).

Più probativa è stata l'indagine radiografica eseguita sulle articolazioni degli arti ove in realtà si è potuto notare, in alcuni animali, un certo parallelismo tra evidenza di reperti radiologici e microscopici; così in due dei quattro ratti trattati con somatotropina ed in due dei quattro trattati con somatotropina associata ad androgeno, e che hanno mostrato alterazioni più marcate dal punto di vista istologico, anche le corrispondenti anomalie radiografiche (figg. 3, 5, 9) sono state tra le più evidenti di tutte quelle riscontrate rispettivamente nei due gruppi di animali.

Così pure nei casi trattati con solo androgeno e con reperti istologici pressochè normali o solo con modica limitazione in spessore delle cartilagini epifisarie, le rispettive immagini radiografiche non hanno dato particolari rilievi patologici ed appaiono simili a quelle degli animali controllo (fig. 6-7).

Al termine di questo rapido confronto anatomo-radiologico desideriamo non dimenticare nella discussione un'ipotesi che merita alcune parole di disamina; se cioè le immagini radiologiche e le lesioni istologiche da noi rilevate, particolarmente nei gruppi di animali trattati con STH e STH + testosterone, possano riportarsi ad una forma di rachitismo.

Pure ammettendo che in animali in esperimento per altri scopi possano presentarsi spontaneamente lesioni rachitiche addebitabili a varie cause interferenti, tuttavia a noi pare, per ciò che riguarda le nostre esperienze, di dover respingere tale evenienza per le seguenti considerazioni:

a) a parte il fatto che le condizioni di ambiente e di illuminazione del nostro stabularium sono state le più idonee ugualmente per tutti gli animali in esperimento, rimarrebbe da spiegare come mai tali presunte lesioni rachitiche si sarebbero presentate esclusivamente nel gruppo di ratti trattati con STH e con STH + testosterone e non negli animali controllo nè in quelli del gruppo trattato esclusivamente con testosterone.

b) Il peso corporeo più adatto all'insorgenza del rachitismo nei ratti (35-40 gr.) è assai inferiore a quello dei nostri animali all'inizio dell'esperienza (90-92 gr.); l'alimentazione inoltre è stata la più adatta al loro accrescimento e ciò basterebbe, secondo BICKNELL e PRESCOTT (³⁹), GYORGY (⁴⁰), a preservarli dal rachitismo.

c) L'indagine radiografica ha dimostrato bensì un'immagine slargata della zona corrispondente alla cartilagine epifisaria che potrebbe far pensare ad analogo aspetto quale può verificarsi nella rachitide (⁴¹); ma esistono delle differenze come si può notare dal confronto tra le figg. 3, 5, 9 e la fig. 11 da cui è agevole rilevare che, anche con una probativa immagine di rachitismo all'altezza della cartilagine di accrescimento, l'immagine radiografica dell'epifisi nella rachitide è più « regolare » e conservata nei contorni rispetto all'immagine presentata dagli animali trattati con STH ed STH + testosterone in cui invece si presenta deforme, slargata e come « soffiata ».

d) Potrebbe avanzarsi l'ipotesi che le lesioni del tipo rachitico siano insorte soltanto in due gruppi di animali, quelli cioè trattati con l'ormone somatotropo e con ormone somatotropo + androgeno, a causa dell'azione specifica dell'STH; la spinta, cioè, alla crescita più rapida di questi

animali e legata all'azione propria dell'ormone della crescita avrebbe potuto d'altro canto indurre una relativa carenza, rispetto alla normale crescita degli altri ratti in esperimento, di vitamina D e di sali di calcio e di fosforo con conseguente influenza rachitogena sulle ossa. Ma oltre a ricordare, di nuovo, come gli estratti pre-ipofisari e l'STH aumentino e non diminuiscano il tasso del fosforo nel sangue (tasso che presenta usualmente un basso livello nel rachitismo), dobbiamo a questo punto della discussione invocare i dati istologici dei ratti in esame e sottolineare che nei nostri animali non sono comparse quelle anomalie di vascolarizzazione nella zona di accrescimento della cartilagine che sono peculiari del processo rachitico (fig. 43). La disposizione dei vasi, nelle varie sezioni da noi esaminate negli animali sottoposti al trattamento ormonico, risulta normale e la linea di demarcazione tra essi e la cartilagine fertile è netta. Inoltre il rachitismo non suole colpire le cartilagini articolari (fig. 44), come è invece marcatamente avvenuto nei casi trattati con STH e con STH + testosterone.

e) Le lesioni rachitiche sperimentali o spontanee si presentano in generale diffuse per tutta l'estensione della cartilagine di accrescimento e non disposte « a focolaio » come è stato da noi rilevato nelle sezioni microscopiche per cui, come già si è detto, accanto a zone cartilaginee profondamente alterate ne sono apparse altre pressochè indenni.

SOMMARIO

a) La somministrazione di *ormone somatotropo* purificato ha provocato in tutti gli animali in esperimento (Gruppo II) oltre a modificazioni del peso corporeo, dei surreni, dei testicoli ed assai meno dell'ipofisi, anche peculiari modificazioni nell'attività proliferativa, nella disposizione anatomica e nell'aspetto degli elementi cartilaginei — cellule e sostanza fondamentale — sia della *cartilagine di coniugazione* che di quella *articolare* con maggiore evidenza di reperti in quest'ultima. Sono state rilevate anche più particolari modificazioni, consistenti in presenza di « gibbosità » di tessuto cartilagineo esuberante e sporgenti nel cavo articolare.

Dal punto di vista radiologico nulla si è potuto rilevare a carico dei corpi vertebrali, mentre all'opposto vi sono state chiare modificazioni dell'immagine roentgen tanto nella zona epifisaria-articolare che metafisaria delle ossa lunghe ed il reperto avrebbe potuto ricordare la rachitide ossea, eventualmente indotta dalle forte dosi di ormone somatotropo e dal conseguente squilibrio nella crescita corporea e nel ricambio calcio-fosforo-vita-

minico degli animali. Tale ipotesi però non è sostenibile tenuto conto di alcuni dati teorici, radiografici e istologici; l'assenza inoltre di lesioni rachitiche negli animali controllo (Gruppo I) fa escludere anche l'ipotesi di un eventuale rachitismo spontaneamente insorto negli animali durante le esperienze.

b) La somministrazione di *ormone androgeno* non ha prodotto negli animali (Gruppo III) particolari modificazioni istologiche nell'aspetto anatomico delle cartilagini articolari sia delle ossa lunghe che delle vertebre; ha prodotto, invece, una ipoplasia della cartilagine di accrescimento rispetto ai controlli.

In questo gruppo di ratti l'immagine radiologica delle strutture anatomiche in esame è stato pressochè uguale a quella del gruppo controllo.

c) La somministrazione combinata di STH + *testosterone* (Gruppo IV) ha prodotto alterazioni istologiche sovrapponibili, in linea generale, a quelle indotte nella cartilagine di coniugazione ed incrostazione dal solo STH; ed anzi in alcuni animali i reperti sono stati più accentuati, particolarmente nelle cartilagini articolari delle ossa lunghe mentre ciò non si è ugualmente verificato nelle vertebre.

L'immagine radiografica è stata più ricca di rilievi nelle ossa lunghe di quei ratti in cui, parallelamente, sono risultate più marcate le lesioni istologiche analogamente a quanto riscontrato negli animali del Gruppo II.

Dai rilievi fatti per gli animali del Gruppo IV si può ammettere che si sia, in realtà, facilitata una condizione di sinergismo tra i due ormoni rispetto ai fenomeni proliferativi osteo-cartilaginei e ciò a comprensione della maggiore evidenza delle modificazioni istologiche (particolarmente nei riguardi delle cartilagini articolari) verificatesi in alcuni degli animali trattati con STH + testosterone.

Roma — Istituto Superiore di Sanità - Laboratorio di biologia e Istituto di Reumatologia dell'Università.

BIBLIOGRAFIA

- (¹) SILBERBERG M., SILBERBERG R. - Arch. Path., 30: 675 (1940); 36: 512 (1943); Am. Jour. Path., 47: 489 (1941); 26: 413 (1950); Endocrinology., 29: 475 (1944).
- (²) REINHARDT W. O., LI C. H. - Science, 117: 293 (1953).
- (³) SIMPSON M. E., EVANS M. H. e coll. - Endocrinology., 33: 309 (1944); SIMPSON M. E. « Growth Hormone Induced Bone and Joint Changes in the Adult Rat » - Meeting of the Am. Rheum. Association, 18-19 giugno (1954).
- (⁴) LUCHERINI T. e coll. - Rendiconti Ist. Sup. Sanità, XVII: 1067 (1954); LUCHERINI T. - Recenti Progressi in Medicina, XVII: 256 (1954); LUCHERINI T., CASTAGNOLI M. - « Reumatismo », Fasc. 5 (1954); LUCHERINI T. e CECCHI E. - Trattato di Reumatologia. Vallardi Ed. (1954).

- (5) TINACCI F.: Sulle relazioni tra sistema endocrino e tessuto cartilagineo - Ed. « La Settimana Medica », Firenze (1953).
- (6) SELYE H. - « The Biology of Mental Health and Disease » pag. 595 - Paul B. Hoeber Inc. New York (1952).
- (7) LABORIT H., FAVRE R., DUSCHESNE G., DECHEN J., BASTIT G. - Press. Méd., 64: 1085 (1953).
- (8) LABORIT H., FAVRE R., DECHEN J., BASTIT G. - Press. Méd., 61: 1249 (1953).
- (9) ALBEAUX-FERNET M. - Press. Méd., 60: 1621 (1952).
- (10) LEMONDE P., PANISSET M., DOBIJA M., SELYE H. - Ann. d'Endocrinologie, vol. 13, n. 6 (1952).
- (11) DE GENNES L.: Maladies des glandes endocrines - Ed. Médical Flammarion (1951).
- (12) GODARD H. - Press. Méd., 60: 415 (1951); 82: 1799 (1952).
- (13) LEBLOND C. P., WILKINSON G. W., BELANGER L. F., ROBICHON J. - Am. Jour. Anat., 80: 289 (1950).
- (14) BECKS H., RAY R. D., SIMPSON M. E., EVANS H. M. - Arch. Path., 34: 334 (1942).
- (15) CONTI C. - Folia Endocrinologica, VII: 437 (1954).
- (16) SILBERBERG M. - Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 32: 1423 (1935); 34: 333 (1936); 36: 622 (1937).
- (17) SELYE H. - First Annual Report on Stress, Montreal, Acta Inc. (1951).
- (18) Cit. da LUCHERINI.
- (19) FINESCHI G., GREPPI G., LUCHERINI T., MARTIN E. e FALLET G. H., MÍCHEZ J. e BÖLCKE R., RIZZI I., TERRIER C., TINACCI F. - Relazione e discussione sui temi: « Dismetabolismi generali e locali nella malattia artrosica » - Artrosi della senescenza. Congresso Inter. Soc. Ital. di Gerontologia e Geriatria, Salsomaggiore, ottobre 1954 - IX Congr. Naz. di Reumatologia, Genova, giugno 1955.
- (20) GARDNER W. V., PFEIFFER C. A. - Physiology Rev., 23: 139 (1943).
- (21) URIST M. R. e coll. - Proc. Soc. Exper. Biol. and Med., 68: 324 (1948).
- (22) LICHTWITZ A. e coll. - Sem. Hôpitaux, 22 Janv. (1951).
- (22 bis) OTT V. R. - III Congr. Europeo di Reumatologia, Schveningen (Olanda), 13 giugno 1955.
- (23) RUBISTEIN H. S., SOLOMON M. L. - Proc. Soc. Exper. Biol. and Med., 44: 442 (1940).
- (24) RUBISTEIN H. S., ABARBANEL A. R., KURLAND A. A. - Endocrinology, 25: 397 (1939).
- (25) SHAY H. N., GERSHON-COHEN J., PASCHKIS K. E., FELS S. S. - Endocrinology, 28: 887 (1941).
- (26) TURNER H. H., LACHMANN E., HELLBAUM A. A. - Endocrinology, 29: 425 (1944).
- (26 bis) GÉRARD-LEFÈVRE, BERNARD GAUDIER, JACQUEMONT R. - Sem. des Hôp., 31: 1091 (1955).
- (26 tris) DEANSLEY R., PARKES A. S. - Jour. Endocrinology, 2: 481 (1940-41).
- (27) TEEL e WATKIN - cit. da LUCHERINI (4).
- (28) LI C. H., EVANS H. B. - Rec. Progr. Horm. Res., 3: 3 (1948).
- (29) KINSELL L. W. e coll. - Jour. Clin. Invest., 8: 1013 (1948).
- (30) REINFESTEIN S. e coll. - Jour. Clin. Invest., 25: 932 (1946).
- (31) DECOURT - cit. da LUCHERINI (4).
- (32) LI C. H. e coll. - Science, 108: 624 (1948; Jour. Biol. Chem., 169: 625 (1947); Endocrinology, 44: 67 (1949).
- (32 bis) CASUCCIO C. - Le Osteocondriti. - Rel. Congr. XXXIX della Soc. Ital. Ortopedia e Traum., Napoli, 13 Ottobre 1954.
- (33) BENNET L. L., KREISS R. E., LI C. H., EVANS H. M. - Am. Jour. Physiol., 152: 210 (1947).
- (34) REID E. - Jour. End. - 6, pag. XIII-XIV (1949).
- (35) SELYE H. - Ann. Endocrinology, 13: 841 (1952).
- (36) KOCHAKIAN C. D., STETTNER C. - Am. Jour. Phys., 155: 255 (1948).
- (37) TRÉMOLIÈRE J. - Press. Méd., 63: 271 (1955).
- (38) DONALDSON H. - The rat - Data and reference tables. Philadelphia, II ed. (1924).
- (39) BICKNELL B., PRESCOTT F. - The vitamins in Medicine, III Edition. W. Heinemann, London (1952).
- (40) GYÖRGY P. - Vitamin Methods. Academie Press Inc. Publishers, New York (1950).
- (41) BOURDILLON e coll. - in: COWARD K. H.: The Biological Standardisation of the Vitamins. Ballière, Tindall and Cox-London (1938).