

75. Antonio e Maria GALAMINI. — **Sull'azione adrenocorticotropa esercitata dall'estratto di urine di ratti surrenectomizzati in ratti ipofisectomizzati.**

Riassunto. — Gli AA. hanno osservato che dalle urine di ratti surrenectomizzati si può ottenere un estratto che esercita azione adrenocorticotropa nei ratti ipofisectomizzati.

Résumé. — Les Auteurs ont observé que des urines de rats surrenectomisés on peut obtenir un extrait qui exerce une action adrénocortico-trope sur les rats hypophysectomisés.

Summary. — The Authors have observed that it is possible to obtain from the urine of surrenectomized rats an extract which exercises an adrenocorticotrophic action in hypophysectomized rats.

Zusammenfassung. — Verff. haben beobachtet dass aus dem Harn von nebennierenektomisierten Ratten ein Extrakt gewinnbar ist der auf hypophisektomisierte Ratten eine adrenocorticotrope Wirkung ausübt.

La importanza assunta dall'ormone corticotropo quale efficace mezzo terapeutico nella cura delle artriti ha ravvivato le ricerche su questo ormone anteroipofisario, che, come è noto, esercita la sua azione sulla corteccia surrenale ed agisce sulla produzione degli ormoni corticosurrenali. Al fine di portare un contributo alla fisiologia dell'A.C.T.H. si sono eseguiti esperimenti diretti a ricercare la presenza dell'A.C.T.H. stesso nelle urine del ratto. Presenza di questo ormone è stata già segnalata nelle urine di donna (1-2).

E' intuitivo ritenere che come l'A.C.T.H. esercita azione di stimolo sulla corteccia surrenale e ne regola la produzione degli ormoni, così anche la produzione dell'ormone ipofisario debba essere regolata e per via nervosa e per via umorale da eccitamenti o da sostanze chimiche, che traggono la loro origine a livello del surrene o di altra parte dell'organismo. Tale funzione si può pensare sia anche in dipendenza della concentrazione degli ormoni surrenali nei liquidi dell'organismo stesso. In tal caso però agirebbe da stimolo la diminuzione di concentrazione di essi ormoni. Nel caso di

animali totalmente surrenectomizzati la sorgente di sostanze stimolanti l'ipofisi non può naturalmente essere il surrene.

Gli eccitamenti di origine nervosa o le sostanze chimiche subiscono probabilmente un incremento quando l'attività corticosurrenale diminuisca o quando aumenti nell'organismo il fabbisogno degli ormoni corticosurrenali.

Pertanto, al fine di provocare un eccitamento interno, più intenso del normale, capace di stimolare l'attività ipofisaria, si sono operati i ratti, dei quali si usava l'urina per l'esperimento, di asportazione bilaterale dei surreni. Gli animali surrenectomizzati erano tenuti in gabbie metaboliche e le urine erano raccolte in ambiente acido e cioè in bicchieri che contenevano 10 cc. di acqua debolmente acida per acido cloridrico e mezzo cc. di cloriformio. Le urine raccolte erano diluite e filtrate; si aggiungeva acido picro fino a tinta debolmente gialla; poi, a distanza di tempo, si aggiungeva HCl fino a raggiungere un pH di 3 circa. Si centrifugava; si lavava con soluzione di HCl a pH 3. Si riprendeva il precipitato con poca acqua e si inoculava. Tavolta, alle urine raccolte si aggiungeva acetone fino ad ottenere una concentrazione della miscela del 70-80% di acetone; si lasciava per 24 ore; si filtrava e al filtrato si aggiungevano 4 volumi di acetone e si raccoglieva il precipitato, che veniva ripreso con poca acqua e inoculato.

La inoculazione dell'estratto era fatta a ratti ipofisectomizzati da almeno 14 giorni. Il risultato dell'operazione di ipofisectomia era controllato all'autopsia quando gli animali venivano sacrificati per il prelevamento dei surreni. I surreni erano pesati separatamente; si teneva poi conto, però, del peso totale. I dati sperimentali raccolti sono riuniti nelle seguenti tabelle.

TABELLA I

RATTI FEMMINE DI CONTROLLO

Numero d'ordine	Data dell'ipofisectomia	Durata dell'esperimento	Peso totale dei surreni	Autopsia
1	23.9.1950	21 giorni	mg. 13,3	niente ipofisi
2	17.10.1950	20 »	» 15,9	» »
3	» » »	20 »	» 16,7	» »
4	» » »	20 »	» 16,3	» »
5	» » »	21 »	» 11,9	» »
6	» » »	21 »	» 14,7	» »
7	» » »	21 »	» 14,9	» »
		Media	» 14,8	

TABELLA II

RATTI FEMMINE TRATTATI

Numero d'ordine	Data dell' ipofisectomia	Durata dell'esperimento	Peso totale dei surreni	Autopsia
1	23.9.1950	21 giorni	mg. 24	niente ipofisi
2	17.10.1950	21 »	» 20,4	» »
3	24.11.1950	21 »	» 18,8	» »
		Media	» 21,1	

TABELLA III

RATTI MASCHI DI CONTROLLO

Numero d'ordine	Data dell' ipofisectomia	Durata dell'esperimento	Peso totale dei surreni	Autopsia
1	25.9.1950	21 giorni	mg. 10,8	niente ipofisi
2	23.10.1950	18 »	» 6,1	» »
3	15.11.1950	14 »	» 7,4	» »
4	21.1.1951	21 »	» 6,6	» »
		Media	mg. 7,7	

TABELLA IV

RATTI MASCHI TRATTATI

Numero d'ordine	Data dell' ipofisectomia	Durata dell'esperimento	Peso totale dei surreni	Autopsia
1	30.9.1950	26 giorni	mg. 40,5	niente ipofisi
2	23.10.1950	17 »	» 15,6	» »
3	23.10.1950	16 »	» 16,6	» »
4	23.10.1950	15 »	» 15,0	» »
5	27.10.1950	21 »	» 24,7	» »
6	6.12.1950	14 »	» 17,5	» »
7	21.1.1951	24 »	» 22,6	» »
8	21.1.1951	25 »	» 21,5	» »
9	21.1.1951	21 »	» 19,4	» »
		Media	mg. 21,5	

TABELLA V

RATTI MASCHI TRATTATI CON URINE NORMALI
DI RATTI NON SURRENECTOMIZZATI

Numero d'ordine	Data dell'ipofisectomia	Durata dell'esperimento	Trattamento	Peso totale dei surreni	Autopsia
1	21.12.1950	15 giorni	si	mg. 10,1	niente ipofisi
2	21.12.1950	15 »	si	» 9,6	» »
3	15.11.1950	15 »	si	» 7,4	» »

TABELLA VI

N. d'ordine	Sesso	Data ipofisectomia	Durata esperimento giorni	Trattamento	Peso totale dei surreni	Autopsia
1	♀	23.10.1950	17	niente	mg. 20,2	frammentino ipofisi
2	♀	23.9.1950	21	niente	mg. 37,2	mezza ipofisi circa
3	♀	23.9.1950	21	trattata	mg. 59,2	frammentino ipofisi
4	♂	27.10.1950	21	niente	mg. 14,9	mezza ipofisi circa
5	♂	21.12.1950	15	niente	mg. 19,5	frammento ipofisi
6	♂	23.9.1950	26	niente	mg. 20,9	mezza ipofisi circa
7	♂	30.9.1950	26	niente	mg. 21,3	frammento ipofisi
8	♂	6.12.1950	14	trattato	mg. 26,3	frammento ipofisi
9	♂	6.12.1950	14	trattato	mg. 25,1	frammentino ipofisi
10	♂	21.12.1950	15	trattato	mg. 30,6	frammentino ipofisi
11	♂	23.9.1950	26	trattato	mg. 35,3	mezza ipofisi circa

Nel valutare i dati su esposti è necessario tenere conto che nelle presenti ricerche preliminari si è mirato ad accertare una eventuale attività corticotropa degli estratti di urine di ratti surrenectomizzati e non si è proceduto alla purificazione della sostanza attiva. Non si sono potute di conseguenza eseguire misure quantitative, che consentissero di porre in rapporto l'aumento di peso dei surreni con le dosi di materiale inoculato. Inoltre la durata del trattamento non fu uguale per tutti i ratti.

Dall'esame dei dati su esposti si osserva che il peso dei surreni dei ratti femmine ipofisectomizzati da 20-21 giorni è stato in media di mg. 14,8 (tabella I) e quello dei surreni dei maschi ipofisectomizzati dai 14 ai 26 giorni, in media, di mg. 7,7 (tab. III). In questi ultimi, dunque, i surreni sono scesi ad un peso notevolmente inferiore a quello delle femmine. Poichè è

noto che l'attività della corteccia surrenale non scompare del tutto per effetto della ipofisectomia, ma si riduce ad un livello minimo, è da concludere che il fabbisogno dell'attività corticosurrenale nelle femmine è notevolmente superiore al fabbisogno dei maschi, anche per gli animali ipofisectomizzati, così come lo è per gli animali integri.

Confrontando ora il peso dei surreni degli animali di controllo (del peso di circa 110 gr., che furono appunto gli animali usati nelle presenti ricerche), ipofisectomizzati e non trattati, con quello degli animali ipofisectomizzati e trattati, si nota che negli animali trattati con estratto di urine si è avuto un aumento di peso dei surreni.

Nei maschi trattati il peso medio dei surreni era di mg. 21,5 nei ratti ipofisectomizzati dai 14 ai 26 giorni (tab. IV), e nelle femmine ipofisectomizzate da 21 giorni il peso medio era di mg. 21,1 (tab. II); mentre nei controlli non trattati era, come si è detto, di mg. 7,7 per i maschi ipofisectomizzati dai 14 ai 21 giorni e di mg. 14,8 per le femmine. L'aumento percentuale dei valori medi calcolati è stato quindi per i maschi del 180 e per le femmine del 42,56.

Pertanto l'estratto delle urine di animali surrenectomizzati ha esercitato una manifesta azione corticotropica. Le ricerche chimiche già iniziate nel nostro Laboratorio potranno consentire di isolare e purificare la sostanza attiva e di confrontarla con quella desunta dall'ipofisi.

Dell'esame istologico dei surreni degli animali usati per l'esperimento si tratterà in una nota successiva.

L'azione adrenocorticotropa osservata con l'estratto di urine di ratti maschi surrenectomizzati è stata assai più evidente dell'azione debole o nulla osservata con estratti di urine di ratti normali, come risulta dalla tabella n. 5. I dati raccolti a questo riguardo sono limitati e pertanto gli esperimenti saranno ripetuti e ampliati. Ora conviene rivolgere l'attenzione all'aumento di peso dei surreni degli animali trattati, nei quali all'autopsia si trovava un piccolissimo frammento di ipofisi o parte d'ipofisi fino a circa metà. Il peso di questi surreni è in media superiore a quello degli animali trattati che erano completamente ipofisectomizzati ed anche a quello di animali non trattati incompletamente ipofisectomizzati. Era, infine, talvolta, superiore anche al peso medio dei surreni di animali normali (tab. VI). In questo caso sarebbe da prendere in considerazione la possibilità che l'aumento di peso dei surreni possa essere dovuto non solo all'azione corticotropa diretta dell'estratto di urine, ma anche ad una azione corticotropa indiretta esercitata sul surrene attraverso il frammentino di ipofisi.

Ricerche ulteriori, eseguite a tale scopo, potranno dimostrare se l'a-

zione di stimolo sul frammento di ipofisi debba essere attribuita o non all'estratto di urine.

Le presenti ricerche ci sembra portino un contributo alla dimostrazione della utilità dello studio del metabolismo degli ormoni e quindi anche della escrezione degli stessi con le urine. Non appare infatti del tutto infondato ritenere che dallo studio della escrezione degli ormoni, fatto con l'indagine chimica e biologica, possano trarsi elementi importanti di valutazione di determinate attività dell'organismo, e si possano raccogliere dati importanti e per la fisiologia e per la patologia. Dall'analisi statistica di casi patologici potranno aversi indicazioni che è difficile desumere dagli esperimenti di laboratorio poichè in natura avvengono mutazioni assai più delicate di quelle sempre grossolane che si provocano sperimentalmente con la vivisezione e potrà darsi che anche l'ACTH prodotto ad esuberanza ed eliminato da un organismo possa essere materiale ormonico prezioso per colmare lacune di un altro organismo che ne è carente.

Diranno i risultati di nuove ricerche e di analisi statistiche sperimentali eseguite nell'uomo quanto e in che misura queste previsioni potranno avverarsi.

Così come da ulteriori ricerche si desumerà in che misura la tecnica da noi usata nei presenti esperimenti sia capace di determinare nell'organismo le condizioni favorevoli alla produzione di un determinato ormone e possa essere estesa a ghiandole endocrine diverse dal surrene e ad animali diversi dal ratto.

I risultati finora ottenuti conducono per il momento alle seguenti conclusioni:

1) Il minimo di attività corticosurrenale indispensabile all'organismo è nel ratto femmina ipofisectomizzato superiore a quello del ratto maschio ipofisectomizzato;

2) L'estratto di urine di ratti surrenectomizzati esercita azione adrenergocorticotropa.

Roma - Istituto Superiore di Sanità - Laboratorio di Biologia.

BIBLIOGRAFIA

(¹) Y.M.L. GOLLA e M. REISS, *J. Endocrinology* 3, 5, 1942.

(²) GREGORIO PINCUS, *Recent Progress in Hormone Research*, vol. II, 109, 1948.
